



# UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

## TRABAJO FIN DE ESTUDIOS

Título

Estudio de la microbiología del suelo y de la producción del  
viñedo

Autor/es

EIDER MANZANOS AMURRIO

Director/es

MARÍA FERNANDA RUIZ LARREA y JAVIER UGARTE ANDREVA ,

Facultad

Facultad de Ciencia y Tecnología

Titulación

Grado en Enología

Departamento

AGRICULTURA Y ALIMENTACIÓN

Curso académico

2017-18



***Estudio de la microbiología del suelo y de la producción del viñedo***, de EIDER  
MANZANOS AMURRIO

(publicada por la Universidad de La Rioja) se difunde bajo una Licencia Creative  
Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported.

Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los  
titulares del copyright.

© El autor, 2018

© Universidad de La Rioja, 2018

[publicaciones.unirioja.es](http://publicaciones.unirioja.es)

E-mail: [publicaciones@unirioja.es](mailto:publicaciones@unirioja.es)

# ESTUDIO DE LA MICROBIOLOGÍA DEL SUELO Y DE LA PRODUCCIÓN DEL VIÑEDO



EIDER MANZANOS AMURRIO

GRADO EN ENOLOGÍA



Trabajo Fin de Grado  
Año académico 2017/2018  
Universidad de La Rioja

TUORES:

FERNANDA RUIZ LARREA

JAVIER UGARTE ANDREVA





## **Trabajo Fin de Grado**

# **Estudio de la microbiología del suelo y de la producción del viñedo**

**EIDER MANZANOS AMURRIO**

**Tutores: FERNANDA RUIZ LARREA**

**JAVIER UGARTE ANDREVA**

**Facultad de Ciencia y Tecnología**

**Grado en Enología**

**AÑO ACADÉMICO 2017-2018**



# ÍNDICE

<b>ÍNDICE DE TABLAS .....</b>	<b>iii</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>iii</b>
<b>ABREVIATURAS .....</b>	<b>iv</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>2</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>3</b>
1.1 Viñedos de la Denominación de Origen Calificada Rioja (D.O.C.Rioja) .....	3
1.2 El manejo del suelo del viñedo.....	3
1.3 Microbiota del suelo del viñedo.....	4
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>7</b>
<b>3. MATERIALES Y METODOLOGÍA .....</b>	<b>8</b>
3.1 Diseño experimental .....	8
3.2 Referencias catastrales .....	9
3.3 Datos agronómicos .....	11
3.4 Muestreo de suelo .....	14
3.5 Análisis edafológicos .....	15
3.6 Control y análisis de uva .....	16
3.7 Madera de poda .....	16
3.8 Parámetros agroclimáticos .....	17
3.9 Análisis microbiológicos .....	18
3.10 Análisis estadístico de los datos .....	20
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>21</b>
4.1 Resultados edafológicos .....	21
4.2 Resultados agroclimáticos .....	26
4.3 Resultados de la producción y calidad de la uva .....	27
4.4 Resultados microbiológicos .....	30
4.5 Análisis de componentes principales .....	33
<b>5. CONCLUSIONES .....</b>	<b>37</b>
<b>6. REFERENCIAS .....</b>	<b>38</b>
<b>7. ANEXOS .....</b>	<b>40</b>

Anexo I: Relación C/N, contenido en N y contenido en MO oxidable de las muestras .....	40
Anexo II: Resultados de la humedad del suelo por estaciones (primavera y otoño) .....	42
Anexo III: Datos agroclimáticos recogidos de la estación de La Grajera .....	43
Anexo IV: Datos de madera de poda: conteo de sarmientos y pesaje de la madera de poda...	44
Anexo V: Resultados de la producción y control de uva .....	47
Anexo VI: Resultados microbiológicos de primavera y otoño .....	49



## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla. 1.** Composición y pH del suelo de cada una de las parcelas estudiadas.

**Tabla. 2.** Producción de uva en cada una de las parcelas de viñedos estudiadas.

**Tabla. 3.** Parámetros de la uva analizados.

**Tabla. 4.** Autovalores del análisis de componentes principales (primavera).

**Tabla. 5.** Coeficientes de la función discriminante canónica estandarizadas (primavera).

**Tabla. 6.** Autovalores del análisis de componentes principales (otoño).

**Tabla. 7.** Coeficientes de la función discriminante canónica estandarizadas (otoño).

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Fig. 1.** Fotografías de la parcela de cultivo ecológico en dos momentos del año diferentes: primavera y otoño ("ECO").

**Fig. 2.** Fotografías de la parcela con cubierta vegetal en dos momentos del año diferentes: primavera y otoño ("CON").

**Fig. 3.** Fotografías de la parcela control sin cubierta vegetal en dos momentos del año diferentes: primavera y otoño ("SIN").

**Fig. 4.** Fotografías de la parcela en pendiente en dos momentos del año diferentes: primavera y otoño ("PEN").

**Fig. 5.** Parcelas de cultivo con/sin cubierta y en pendiente.

**Fig. 6.** Parcela de cultivo ecológico.

**Fig. 7.** Fotografía de la parcela de cultivo ecológico.

**Fig. 8.** Fotografía de la parcela de cultivo con cubierta vegetal.

**Fig. 9.** Fotografía de la parcela de cultivo sin cubierta vegetal.

**Fig. 10.** Fotografía de la parcela de cultivo en pendiente.

**Fig. 11.** Muestra de suelo tomada de los primeros 15 cm: 100 g recogidos en un bote estéril.

**Fig. 12.** Contenido en materia orgánica del suelo de cada una de las parcelas estudiadas.

**Fig. 13.** Contenido en N total del suelo de cada una de las parcelas estudiadas.

**Fig. 14.** Relación C/N del suelo de cada una de las parcelas estudiadas.

**Fig. 15.** Humedad del suelo de cada una de las parcelas estudiadas.

**Fig. 16.** Temperatura del aire.

**Fig. 17.** Temperatura del suelo.

**Fig. 18.** Precipitación acumulada.

**Fig. 19.** Madera de poda (kg/gavilla).

**Fig. 20.** Población microbiana del suelo de cada una de las parcelas estudiadas en junio.

**Fig. 21.** Población microbiana del suelo de cada una de las parcelas estudiadas en octubre.

**Fig. 22.** Análisis de componentes principales de los análisis de las muestras de junio.

**Fig. 23.** Análisis de componentes principales de los análisis de las muestras de octubre.

## ABREVIATURAS

AIA	Medio de cultivo Actinomycete isolation agar
C	Carbono
cm	Centímetro
CON	Parcela con cubierta vegetal
D	Dilución
D.O.C. Rioja	Denominación de Origen Calificada Rioja
ECO	Parcela con cultivo ecológico
EN	European Norm
<i>et al.,</i>	Y colaboradores
Fig.	Figura
g	Gramo
h	Hora
ha	Hectárea
IBM	Internastestional Business Machines Corporation
ICVV	Instituto de Ciencias de la Vid y el Vino
kg	Kilogramo
L	Litro
log	Logaritmo
m	Metro
m <sup>2</sup>	Metro cuadrado
mg	Miligramo
ml	mililitro
MO	Materia orgánica
N	Nitrógeno
N °	Número
PCA	Medio de cultivo Plate Count Agar
PEN	Parcela en pendiente
PS	Peso seco
rpm	Revoluciones por minuto
SIN	Parcela sin cubierta vegetal
sms	Sobre materia seca
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
UFC	Unidades formadoras de colonias
USA	United States of America
UTM	Universal Transversal de Mercator
Vol. %	Porcentaje en volumen, unidad para el grado alcohólico
YPD	Medio de cultivo Yeast Extract Peptone Dextrose
° C	Grado Celsius
µg	Microgramo
µL	Microlitro
°	Grado
%	Tanto por ciento
‰	Tanto por mil

## RESUMEN

En este trabajo se realizó un estudio con objeto de encontrar relaciones entre la microbiota del suelo, el manejo agronómico del viñedo, las condiciones edafológicas y la producción del viñedo. Se estudiaron cuatro parcelas con rasgos y manejos diferentes; una con sistema ecológico y tres con sistema convencional, de las cuales una se distinguía por su posicionamiento en pendiente, otra por su manejo con cubierta vegetal y por último otra sin cubierta vegetal. Fueron seleccionadas las siguientes variables edáficas: contenido en N, materia orgánica, relación C/N y humedad. Para los análisis microbiológicos de los suelos se tomaron muestras de suelo en dos épocas distintas del año: primavera (mitad del periodo vegetativo) y otoño (postvendimia). Se cuantificó la población microbiana de los suelos mediante cultivo en distintos medios selectivos para cuatro familias de microorganismos: fijadores de nitrógeno, actinomicetos, aerobios totales y levaduras. También se analizó la uva y la cantidad de madera de poda generada para conocer la producción de las diferentes parcelas.

Los resultados obtenidos mostraron que:

- La población de levaduras fue inferior en primavera que en otoño, como era de esperar para este muestreo postvendimia.
- El viñedo con cubierta vegetal presentó valores superiores de poblaciones microbianas al resto de parcelas, y esos valores se correlacionaron con los valores más elevados de materia orgánica y de N que presentó su suelo.
- La parcela en pendiente presentó los valores más bajos de materia orgánica y de relación C/N, así como los valores más bajos de microorganismos fijadores de nitrógeno, actinomicetos y aerobios totales.
- La producción de uva y la acidez total del mosto de las uvas del viñedo ecológico presentaron los valores más elevados con respecto al resto de parcelas, así como el grado alcohólico probable y el grado Brix más bajos.

Y resumiendo se puede concluir que el manejo del cultivo y las características topográficas del viñedo tienen un efecto sobre la microbiota presente en el suelo, la cual presenta diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones de las distintas familias de microorganismos.

**Palabras clave:** microbiota, suelo de viñedo, viñedo ecológico, cubierta vegetal y microorganismos fijadores de nitrógeno.

## ABSTRACT

In this work a study was performed to investigate the relationships among soil microbiota, vineyard management, edaphological features and vineyard production. Four vineyard plots with different agronomic features and managements were studied: an organic-managed vineyard and three conventional-system vineyards, out of which one was on a slope, another was managed with green cover, and the third one was the control plot, without green cover. Several soil variables were studied: nitrogen content, organic matter, the C/N ratio and soil humidity. Soil samples were taken for the microbiological study in two seasons: spring (middle of the vegetative stage) and autumn (grape post-harvest). Soil microbiota was quantified by culture in selective media for four microorganism families: nitrogen fixing bacteria, actinomycetes, total aerobes and yeast. Grape and wood production of each vineyard was also determined.

Results showed that:

- The yeast population was lower in spring than in autumn, which was expected as this latter was a post-harvest sampling.
- The green cover vineyard showed the highest values of microbial populations, and these values correlated with the highest values of organic matter and N content of by this green cover soil.
- The vineyard on a slope showed the lowest values of organic matter and C/N ratio, as well as of nitrogen fixing microorganisms, actinomycetes and total aerobes.
- The grape production and total acidity of the grapes from the organic vineyard showed the highest values, as well as the lowest values of probable alcoholic degree and Brix degrees.

Summarising it can be concluded that the vineyard management and topographic features affect soil microbiota, which shows statistically significant differences among the diverse microorganism families.

**Key words:** microbiota, vineyard soil, organic vineyard, green cover and nitrogen fixing microorganisms.

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1 Viñedos de la Denominación de Origen Calificada Rioja (D.O.C. Rioja)**

La D.O.C. Rioja se encuentra en el noroeste de la depresión del río Ebro, limitada al sur con la Sierra de la Demanda y al norte con la Sierra Cantabria, y está formada por tres subzonas: Rioja Alavesa, Rioja Alta y Rioja Oriental. Actualmente la superficie de viñedo registrada es de un total de 65.326 hectáreas de las cuales se obtiene unos de los vinos más prestigiosos de España por su gran diversidad de suelos y climas que, permiten elaborar vinos de calidad con características muy particulares.

Los viñedos son beneficiados por la influencia de dos climas; mediterráneo y atlántico, los cuales proporcionan temperaturas suaves y precipitaciones anuales superiores a 400 L/m<sup>2</sup>, siendo estas condiciones apropiadas para el cultivo de la vid ([www.es.riojawine.com](http://www.es.riojawine.com)). Debido a la complejidad tanto del clima como del suelo, se han clasificado las subzonas con características vitivinícolas diferentes:

- En Rioja Alavesa destaca la influencia del clima atlántico y suelos arcillo-calcáreos situados en pequeños viñedos y terrazas.
- En Rioja Alta también destaca el clima atlántico junto a diferentes tipos de suelos; arcillo-calcáreos, arcillo-ferrosos y aluviales.
- En Rioja Oriental predomina el clima mediterráneo, siendo más cálido y seco, mientras que los suelos son arcillo-ferrosos y aluviales.

Otra característica de los viñedos es que poseen una estructura equilibrada en cuanto a arena, limo y arcilla; son suelos ligeramente alcalinos, con moderada disponibilidad de agua en verano y pobres en materia orgánica. Además de esto, el reglamento de la D.O.C. Rioja establece rendimientos máximos permitidos en cuanto a producción, con el fin de garantizar calidad tanto en las uvas como, en los vinos (9.000 kg/ha en variedades blancas y 6.500 kg/ha en variedades tintas), ([www.es.riojawine.com](http://www.es.riojawine.com)).

Los viñedos de Rioja se han especializado en producir uva procedente de la variedad Tempranillo, por lo que los vinos tintos de Rioja son considerados de gran interés, por otro lado, las variedades blancas están actualmente creciendo y evolucionando debido a la autorización de nuevas variedades en 2007.

Resumiendo, podemos decir que los viñedos de Rioja producen uvas de calidad y la complejidad y las características descritas permiten elaborar vinos únicos, peculiares y con personalidad diferenciada.

### **1.2 El manejo del suelo del viñedo**

El suelo es considerado uno de los componentes esenciales del ecosistema, por lo que es esencial entender los procesos biológicos que tienen lugar en el suelo para su correcto uso y para preservar su calidad. La calidad del suelo viene dada por elementos físicos, químicos y biológicos y por la forma en la que interaccionan entre sí ([Corneo et al., 2013](#)).

La pérdida de productividad y el uso frecuente de fertilizantes y pesticidas en los campos agrícolas españoles, hace reflexionar sobre la adecuación de la gestión del suelo en nuestra tierra. La erosión del suelo es uno de los procesos implicados en la pérdida de productividad, por lo que es necesario evaluar su gravedad. Gestionar tal situación es crucial para tomar decisiones por parte de la sociedad, consumidores y/o agricultores, y para orientar a las autoridades competentes a proporcionar medidas adecuadas (Bienes *et al.*, 2012).

En gran parte de los viñedos de la D.O.C. Rioja el suelo es labrado como práctica de manejo para evitar que las malezas o hierbas compitan por la humedad del suelo. Labrar los suelos altera la distribución de la materia orgánica y la estructura del suelo, provocando cambios en el tamaño, en su composición y en la estabilidad del agregado, junto a la disponibilidad de los nutrientes del suelo (Burns *et al.*, 2016). Además, es importante señalar que los suelos de Rioja se caracterizan por su bajo contenido en materia orgánica, por lo que son altamente sensibles a la erosión si se labran. Estudios recientes en Rioja manifiestan que el uso de cubiertas vegetales en los suelos de viñedos mejora la calidad de los mismos (Pérez-Álvarez *et al.*, 2015).

La vegetación espontánea en viñedos tiene como consecuencia reducir las tasas de erosión (Bienes *et al.*, 2012), mientras que, por otro lado, las cubiertas vegetales pueden disminuir la disponibilidad de nitrógeno en el suelo. Con todo ello, en la D.O.C. Rioja, los viñedos con cubiertas vegetales pueden ser una alternativa a la labranza con el fin de mejorar la calidad de los suelos y también, cuando se requiera reducir el vigor de la vid y mejorar la calidad de los mostos. (Pérez-Álvarez *et al.*, 2015).

### **1.3 Microbiota del suelo del viñedo**

El componente biológico del suelo está representado principalmente por los microorganismos, que realizan funciones importantes y desempeñan un papel clave en la cadena alimentaria. Por tanto, el estudio de la diversidad microbiana y cómo varía en función del espacio y el tiempo toma gran interés para los investigadores ecólogos (Corneo *et al.*, 2013). Los microorganismos del suelo llevan a cabo muchos servicios esenciales para el ecosistema, como son: el ciclo de nutrientes, protección contra plagas, agregación y estabilización del suelo y el aumento de la retención de agua. En el caso del viñedo, de forma análoga, las comunidades de microorganismos del suelo (hongos, levaduras y bacterias) desempeñan un importante papel en su productividad, así como en la resistencia a las enfermedades que sufre la vid. Pero además, en viticultura es posible que las comunidades microbianas transmitan aspectos claves del ‘terroir’, mejorando así las condiciones del suelo y transmitiendo cualidades específicas del lugar (Holland *et al.*, 2012).

Los microorganismos del suelo son sensibles a los cambios en la estructura y en el manejo del suelo. Se ha demostrado que el clima, la región, el tipo de suelo y la variedad de la uva desempeñan un papel importante en la estructuración de las comunidades microbianas en el viñedo y posteriormente en las actividades microbianas y la

microbiota asociada al vino ([Bokulich et al., 2014; 2016](#), [Burns et al., 2015](#); [Zarraonaindia et al., 2015](#)).

En relación al efecto de las diferentes estaciones anuales sobre los microorganismos del suelo, se ha propuesto que los parámetros más importantes son: la temperatura y la humedad del suelo. También se han estudiado las cubiertas vegetales ([Corneo et al., 2013](#)). Éstas pueden afectar a la composición de las comunidades microbianas ya que a lo largo del año la cubierta sufre cambios significativos, contribuyendo a la materia orgánica y al contenido en nitrógeno del suelo. Las plantas alteran muchas propiedades del suelo, como la agregación del suelo y el estado de nutrientes del suelo, a través de la exudación de la raíz y la rotación fina de la raíz. A su vez, esto afecta al ambiente microbiano del suelo, dando como resultado cambios en la comunidad microbiana ([Burns et al., 2016](#)).

Respecto al manejo de los cultivos agrícolas, el uso de fertilizantes sintéticos, pesticidas y el manejo de los suelos para aumentar la producción están causando cambios en la biodiversidad, y esto genera una gran preocupación por la sostenibilidad de los sistemas agrícolas intensivos, como es el caso de la viticultura. Los efectos que están generando estas prácticas de manejo agrícola en la diversidad microbiana de los suelos no se conocen bien y están siendo objeto de estudios recientes. Los microorganismos del suelo, concretamente las bacterias, representan la mayor parte de la biodiversidad de los ecosistemas del suelo y, además, éstas participan en diversas funciones del ecosistema, incluyendo el ciclo de nutrientes y la salud de las plantas. A pesar del papel esencial de las comunidades microbianas en los agroecosistemas, todavía tenemos una comprensión limitada de la respuesta compleja de la diversidad y composición microbiana a los sistemas agrícolas ecológicos y convencionales y a los métodos alternativos para controlar los patógenos de las plantas ([Lupatini et al., 2017](#)).

Tal y como se ha indicado más arriba, el comportamiento de los microorganismos del suelo es un componente importante para el *'terroir'*, por eso es de gran interés estudiar el comportamiento de éstos en los diferentes sistemas agrícolas, convencionales y ecológicos. Se ha demostrado que altos niveles de nutrientes solubles debidos a la aplicación de fertilizantes inorgánicos, cambian la colonización microbiana de las raíces, afectando negativamente a la colonización micorrizal, llegando a reducir la cantidad de las raíces del suelo ([Probst et al., 2008](#)). Por eso, los sistemas de manejo de viñedos ecológicos han generado un gran interés como posibilidad para mejorar tanto la calidad del suelo, como la de la uva. Los sistemas de manejo de la agricultura ecológica renuncian al uso de pesticidas sintéticos, fertilizantes de síntesis, y en este manejo la labranza superficial queda muy reducida. Otros investigadores han demostrado que llevando a cabo un sistema de agricultura ecológica la población microbiana del suelo crece más rápidamente debido a los nutrientes, se promueve la biodiversidad del hábitat y aumenta la sostenibilidad. Además, en cuanto a la salud de las plantas, en comparación con sistemas agrícolas convencionales, la agricultura ecológica parece favorecer la presencia de microorganismos beneficiosos para la producción y el equilibrio del suelo ([Lupatini et al., 2017](#)).

En cuanto al sistema agrícola convencional, otros investigadores ([Likar et al., 2017](#)) afirman que los efectos de dicha agricultura afectan negativamente a las comunidades microbianas del suelo por la aplicación de fungicidas, por acidificar el suelo debido al aporte de fertilizantes y por la labranza. La aplicación de plaguicidas también afecta negativamente a comunidades microbianas beneficiosas como son los hongos micorrícicos.

En resumen, si algo puede distinguir un viñedo de otro, entre otros factores, sin duda es su comunidad microbiana, y la diversidad y cantidad de microorganismos establecidos en el suelo y en la vid pueden determinar tanto la salud de la uva como los microorganismos que se introducirán en la bodega y que afectarán a los procesos de fermentación y crianza del vino. Conocer las condiciones microbiológicas del viñedo permitirá, tanto al viticultor como al enólogo a tomar decisiones como, por ejemplo, reducir tratamientos químicos en campo, usar menores dosis de azufre en bodega, o decidir el tipo de levadura y la dosis a inocular en caso de ser necesario ([Belda et al., 2017](#)).



## **2. OBJETIVOS**

Los objetivos propuestos para este Trabajo Fin de Grado fueron los siguientes:

1. Estudiar cuatro parcelas de cultivo de viñedo localizadas en la finca institucional de La Grajera, con distintas características y manejo de cultivo:
  - a) Sistema de cultivo ecológico.
  - b) Sistema convencional en superficie llana y suelo desnudo.
  - c) Sistema convencional en superficie llana y con cubierta vegetal.
  - d) Sistema convencional en pendiente y suelo desnudo.
2. Realizar análisis microbiológicos del suelo de las parcelas en dos épocas distintas del año: primavera (mitad del periodo vegetativo) y otoño (postvendimia).
3. Estudiar y cuantificar la madera de poda generada y la producción del viñedo.
4. Buscar posibles relaciones entre la microbiota del suelo, el manejo agronómico del viñedo, las condiciones agroclimáticas, y la producción del viñedo.

### 3. MATERIALES Y METODOLOGÍA

#### 3.1 Diseño experimental

Para el estudio de microbiología del suelo del viñedo, fueron elegidas cuatro parcelas representativas las cuales presentaban condiciones agronómicas diferentes:

- Cultivo de viñedo sin cubierta vegetal, considerado cultivo control (código 'SIN').
- Cultivo de viñedo con cubierta vegetal (código 'CON').
- Cultivo de viñedo en pendiente o ladera (código 'PEN').
- Cultivo de viñedo de agricultura ecológica (código 'ECO').

Se eligieron estas cuatro parcelas con el objetivo de que los parámetros climáticos y varietales fueran los mismos, de forma que las variaciones en los resultados microbiológicos sean atribuibles al aspecto agronómico elegido que diferencia cada parcela respecto a la parcela control horizontal, con suelo sin cubierta vegetal y con manejo convencional del viñedo.



**Fig. 1.** Fotografías de la parcela de cultivo ecológico en dos momentos del año diferentes: primavera y otoño ("ECO").



**Fig. 2.** Fotografías de la parcela con cubierta vegetal en dos momentos del año diferentes: primavera y otoño ("CON").





**Fig. 3.** Fotografías de la parcela control sin cubierta vegetal en dos momentos del año diferentes: primavera y otoño (“SIN”)



**Fig. 4.** Fotografías de la parcela en pendiente en dos momentos del año diferentes: primavera y otoño (“PEN”).

### 3.2 Referencias catastrales

Para los casos de estudio de cultivo con cubierta vegetal (“CON”); cultivo control sin cubierta vegetal (“SIN”); y cultivo en pendiente (“PEN”) se eligió la misma parcela catastral, ubicada en el municipio de Logroño, polígono 34, parcela 1, recinto 3, en diferentes zonas. Coordenadas UTM: 539768 / 4698822.





**Fig. 5.** Parcelas de cultivo con/sin cubierta y en pendiente.

En el caso del cultivo ecológico (“ECO”), se eligió una parcela catastral próxima a la anterior, ubicada en Logroño, polígono 33, parcela 1, recinto 5. Coord. UTM: 540029 / 4698330.



**Fig. 6.** Parcela de cultivo ecológico.

### 3.3 Datos agronómicos

#### Parcela 1: Cultivo ecológico ("ECO")

- Cultivo: Viñedo
- Variedad: Tempranillo sobre R-110
- Año plantación: 1978
- Marco: 2,6 m x 1,2 m
- Sistema de formación: vaso
- Tipo de suelo: arenoso (<10% arcilla)
- Composición del suelo: 67,1% arena, 24,0% limo y 8,90% arcilla
- Mantenimiento del suelo: laboreo
- Incorporación restos de poda: sí
- Condiciones de riego: secano
- Sistema de cultivo: ecológico
- Tipo de fertilización: química autorizada y orgánica
- Topografía: llana
- Producción media: 4.000 Kg/ha



**Fig. 7.** Fotografía de la parcela de cultivo ecológico.

#### Parcela 2: Cultivo con cubierta vegetal ("CON")

- Cultivo: viñedo
- Variedad: Tempranillo sobre R-110
- Año plantación: 1992
- Marco: 2,8 m x 1,2 m
- Sistema de formación: vaso
- Tipo de suelo: franco (10-30% arcilla)
- Composición del suelo: 42,1% arena, 44,1% limo y 13,9% arcilla
- Mantenimiento del suelo: cubierta vegetal espontánea
- Incorporación restos de poda: sí
- Condiciones de riego: secano con riego de apoyo puntual
- Sistema de cultivo: convencional
- Tipo de fertilización: química y orgánica

- Topografía: llana
- Producción media: 6.000 Kg/ha



**Fig. 8.** Fotografía de la parcela de cultivo con cubierta vegetal.

Parcela 3: Cultivo sin cubierta vegetal ("SIN")

- Cultivo: viñedo
- Variedad: Tempranillo sobre R-110
- Año plantación: 1985
- Marco: 2,8 m x 1,2 m
- Sistema de formación: vaso
- Tipo de suelo: franco (10-30% arcilla)
- Composición del suelo: 49,3% arena, 36,5% limo y 14,1% arcilla
- Mantenimiento del suelo: laboreo
- Incorporación restos de poda: sí
- Condiciones de riego: secano con riego de apoyo puntual
- Sistema de cultivo: convencional
- Tipo de fertilización: química y orgánica
- Topografía: llana
- Producción media: 6.000 Kg/ha





**Fig. 9.** Fotografía de la parcela de cultivo sin cubierta vegetal.

**Parcela 4: Cultivo en pendiente ("PEN")**

- Cultivo: viñedo
- Variedad: Tempranillo sobre R-110
- Año plantación: 1985
- Marco: 2,8 m x 1,2 m
- Sistema de formación: espaldera
- Tipo de suelo: franco con alto contenido en arcilla (10-30% arcilla)
- Composición del suelo: 13,7% arena, 59,0% limo y 27,4% arcilla
- Mantenimiento del suelo: laboreo
- Incorporación restos de poda: sí
- Condiciones de riego: seco con riego de apoyo puntual
- Sistema de cultivo: convencional
- Tipo de fertilización: química y orgánica
- Topografía: pendiente
- Producción media: 6.000 Kg/ha



**Fig. 10.** Fotografía de la parcela de cultivo en pendiente.

### 3.4 Muestreo del suelo

Los muestreos del suelo se realizaron en dos momentos estacionales del año diferentes:

- Primavera (24/06/2017)
- Otoño (26/10/2017)

En un trabajo previo ([Ugarte, 2017](#)) se había realizado el estudio de las mismas parcelas en la época de invierno (24/02/2017). Para la toma de muestras de cada parcela, se tomaron cinco repeticiones para la obtención de una estadística fiable. De tal forma que, las muestras de primavera “tiempo 2” o “T2” y las de otoño “tiempo 3” o “T3”; siendo las codificaciones las siguientes:

#### PRIMAVERA

- ECO1.T2, ECO2.T2, ECO3.T2, ECO4.T2, ECO5.T2
- CON1.T2, CON2.T2, CON3.T2, CON4.T2, CON5.T2
- SIN1.T2, SIN2.T2, SIN3.T2, SIN4.T2, SIN5.T2
- PEN1.T2, PEN2.T2, PEN3.T2, PEN4.T2, PEN5.T2

#### OTOÑO

- ECO1.T3, ECO2.T3, ECO3.T3, ECO4.T3, ECO5.T3
- CON1.T3, CON2.T3, CON3.T3, CON4.T3, CON5.T3
- SIN1.T3, SIN2.T3, SIN3.T3, SIN4.T3, SIN5.T3
- PEN1.T3, PEN2.T3, PEN3.T3, PEN4.T3, PEN5.T3

El procedimiento de la toma de muestras, fue el mismo que se empleó para el anterior estudio correspondiente a la muestra de invierno.

- 1) El muestreo fue repetido un total de cinco veces por parcela.
- 2) Dentro de cada parcela, las vides seleccionadas fueron identificadas con una estaca que poseía el código correspondiente (ECO, CON, SIN, PEN) y numeradas en serie (1 a 5).
- 3) La muestra tomada de 100 g de suelo superficial, fue tomada de los primeros 15 cm de suelo superficial de esa cepa hacia el interior de la calle. Para ello, se emplearon recipientes estériles. Además, se tomaron muestras de suelo de otros 4 puntos próximos a cepas alternas en zig-zag dentro de la misma calle (dos filas contiguas). Una vez cogidas, fueron mezcladas en una bolsa estanca con zip con objeto de tener una muestra representativa.





**Fig. 11.** Muestra de suelo tomada de los primeros 15 cm: 100 g recogidos en un bote estéril

El esquema seguido fue el siguiente:

VID 1 VID 2 VID 3 VID 4 VID 5 VID6 VID 7 VID 8 VID 9 VID10 VID11 VID12 VID13  
VID 1 VID 2 VID 3 VID 4 VID 5 VID6 VID 7 VID 8 VID 9 VID10 VID11 VID12 VID13

El esquema anterior indica que la muestra del suelo fue tomada de la zona próxima a las vides marcadas en rojo (1, 4, 7, 10 y 13) dentro de la misma calle, a 15 cm de cada planta.

- 4) El suelo recogido fue agitado y homogeneizado en la bolsa, y de ahí se extrajo una muestra de 100 g aproximadamente. Se introdujo en un bote estéril y se etiquetó con su código correspondiente.
- 5) Después, cada muestra de 100 g fue congelada a -20°C hasta su posterior análisis microbiológico en el laboratorio.

### 3.5 Análisis edafológicos

Humedad del suelo (en % sobre materia seca):

Se pesaron 10 g aproximadamente de muestra de suelo, anotando el peso exacto dado por la balanza. Después, se dejó 24 horas en una estufa a unos 60 °C para poder determinar el peso seco y la cantidad de humedad presenta en la tierra.

$$HUMEDAD (\% sms) = \frac{P_1 - P_2}{P_2} * 100$$

(P<sub>1</sub>: peso suelo húmedo; P<sub>2</sub>: peso suelo seco)

El resto de análisis edafológicos se realizaron en el laboratorio Regional de La Grajera, y para cada parcela se determinaron los siguientes parámetros con los métodos indicados con cinco repeticiones para llevar a cabo la comparación estadística entre las parcelas de estudio:

Materia orgánica oxidable. Método Walkley-Black (1994), que consiste en una volumetría por retroceso (con sal de Mohr para valorar el dicromato no utilizado en la reacción de oxidación del C orgánico), con auto-valorador Metrohm. El resultado se expresa en % materia orgánica oxidable.

pH en suspensión suelo: agua (1:5). Método EN 15933:2012 para pH, midiendo con auto-valorador Metrohm dotado de potenciómetro (para medir pH).

Nitrógeno elemental. Método Dumas con analizador elemental Truspec CNS de Leco, basado en EN 16168:2012. El equipo quema la muestra a 950 °C y determina el nitrógeno (como N<sub>2</sub>, después de haber reducido los NO<sub>x</sub> con cobre caliente) con una célula de termo-conductividad. Los resultados se expresan como ‰ N, es decir g N/Kg suelo.

Relación C/N: calculado como la relación de (MO/1,724) /N.

### **3.6 Control y análisis de uva**

El muestreo se llevó a cabo en el mes de septiembre, antes de la vendimia, y se realizó del siguiente modo, tomando los racimos de las parcelas seleccionadas.

- 1) El muestreo fue repetido un total de cinco veces por parcela.
- 2) Se contaron los racimos de la cepa seleccionada y de las tres siguientes cepas próximas con movimientos en zig-zag para obtener una muestra representativa. Luego, se hizo una suma de los racimos contados.
- 3) Se hizo lo mismo para el peso, es decir, se pesaron los racimos obtenidos de esa cepa y de las tres siguientes para después hacer la suma y obtener el peso por cada cepa numerada.
- 4) Con los datos recogidos, se obtuvo la media del peso por racimo de las cinco cepas numeradas y del total de las cepas.
- 5) También fueron pesadas 100 bayas de cada cepa, calculándose después la media.
- 6) Se realizaron las siguientes analíticas de los mostos: °Brix, grado alcohólico probable, pH y acidez total.

### **3.7 Madera de poda**

Para el estudio de la producción de viñedo fue necesario conocer la cantidad de madera de poda generada y el número de sarmientos por cepa estudiada, ya que nos puede dar una idea del vigor y de la producción de la planta. La época en la que realizó el estudio

fue en invierno de 2018 con las hojas caídas y las cepas en reposo invernal. El procedimiento a seguir fue el siguiente:

- 1) Este proceso se repitió en cada una de las parcelas a estudiar.
- 2) Se identificaron las cepas con estaca numeradas (1 a 5).
- 3) Para obtener una muestra representativa, se contaron el número de sarmientos de la cepa numerada y de las tres cepas próximas con movimientos en zig-zag.
- 4) Se calculó una media con el número de sarmientos, de la cual el resultado obtenido correspondería a la media de esa cepa.
- 5) Del mismo modo, se contaron los sarmientos correspondientes de las siguientes 4 cepas numeradas y se calcularon las medias.
- 6) Con las medias de las cinco cepas numeradas, se obtuvo la media global resultante correspondiente al tipo de parcela o viñedo.
- 7) Se podaron todos aquellos sarmientos que se contaron mediante un 'sistema de poda corta', dejando dos yemas por pulgar.
- 8) Los restos de poda obtenidos de la cepa numerada y de sus tres cepas próximas se juntaron para formar una gavilla, atándola con una cuerda para su posterior pesaje en una balanza.
- 9) Las siguientes cuatro cepas numeradas siguieron el mismo proceso hasta obtener cinco medias (de las cinco cepas numeradas); de las cuales de cálculo la media global resultante correspondiente al tipo de parcela o viñedo.

### **3.8 Parámetros agroclimáticos**

Se examinaron varios parámetros agroclimáticos diferentes con objeto de establecer correlaciones con los resultados del análisis microbiológico del suelo. Los datos fueron tomados de la estación agroclimática de Logroño, sujeto al Gobierno de La Rioja, instalada en 2004 en la finca objeto del ensayo en La Grajera, a 465 m de altitud, con coordenadas UTM 540001 / 4698711. Fueron evaluadas los siguientes parámetros:

- Humedad del suelo (%).
- Temperatura del aire (°C): máxima, media y mínima, de los cuatro meses anteriores a la toma de muestra, siendo común para las cuatro parcelas de viñedo en estudio.
- Temperatura media del suelo (°C), de los cuatro meses anteriores a la toma de muestra, siendo común para las cuatro parcelas de viñedo en estudio.
- Precipitación acumulada (l/m<sup>2</sup>), de los cuatro meses anteriores a la toma de muestra, siendo común para las cuatro parcelas de viñedo en estudio.

Tanto la temperatura del suelo y del aire como, la precipitación acumulada, se obtuvieron de los datos proporcionados por el Servicio de Información Agroclimática de la estación de La Grajera, disponible en la siguiente página web: [www.larioja.org/agricultura/es/informacionagroclimatica.com](http://www.larioja.org/agricultura/es/informacionagroclimatica.com)

En cuanto a la humedad del suelo se determinó para el análisis edafológico para después calcular el valor medio de las cinco muestras de cada parcela.

### 3.9 Análisis microbiológicos

Estos análisis se realizaron en los laboratorios del ICVV. Se seleccionaron los siguientes medios:

- YPD-agar, selectivo para levaduras, por el interés enológico que supone el analizar la población de levaduras del suelo del viñedo.
- Actinomycete isolation agar, medio selectivo para actinomicetos, bacterias Gram positivas descomponedoras de la materia orgánica.
- Medio de Burk's: específico para el aislamiento y el cultivo de las bacterias fijadoras del nitrógeno.
- Plate Count agar: medio para el recuento total de microorganismos aerobios.

Los análisis se llevaron a cabo del siguiente modo: se descongelaron 10 g de muestra de tierra y en condiciones estériles se trasvasaron a un bote con 95 mL de solución salina estéril (0.9% NaCl en agua) y se mantuvieron en agitación durante 1 h a 130 rpm a temperatura ambiente (a unos 25 °C). Se sembraron en el medio apropiado con diluciones de orden 10 de la suspensión obtenida tras la agitación.

Por otro lado, se pesó la misma cantidad de tierra de cada muestra y se dejó 24 horas en una estufa a 60 °C para poder determinar el peso seco y la cantidad de humedad presente en la tierra.

#### • Cultivos microbiológicos

Después de la hora de agitación, se prepararon disoluciones seriadas de cada muestra y se sembraron en los medios YPD-agar, Actinomycete isolation agar, Burk's y Plate Count agar indicados más abajo, 50 µL de las siguientes diluciones:

- |                                      |  |
|--------------------------------------|--|
| - MEDIO YPD-AGAR:                    | 10 <sup>0</sup> , 10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup>  |
| - MEDIO ACTINOMYCETE ISOLATION AGAR: | 10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup> |
| - MEDIO BURK'S:                      | 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup> , 10 <sup>-4</sup> |
| - MEDIO PLATE COUNT AGAR:            | 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup> , 10 <sup>-4</sup> |

Se incubaron en una estufa a 30 °C durante dos o tres días y después se procedió al recuento de las colonias. Para sacar las unidades formadoras de colonia por gramo de peso seco se llevó a cabo el siguiente cálculo:

$$\frac{n^{\circ} \text{ colonias} * D * 2000}{g1} = \text{UFC por gramo de suelo (PS)}$$

Siendo:

- D: factor de dilución
- g1: peso seco por gramo de tierra

Respecto a los medios empleados, se tuvieron en cuenta las siguientes consideraciones:

- YPD-agar con penicilina y estreptomicina como inhibidores del crecimiento de bacterias, y en las placas sembradas se deben poner cristales de bifenilo para inhibir el crecimiento de hongos.
- Para estudiar levaduras en muestras de tierras de viñedo hay que trabajar con diluciones  $10^{-1}$  –  $10^{-2}$  para obtener unos buenos recuentos y es muy importante poner bifenilo en las placas para que no haya contaminaciones de hongos, también es necesario que todas las muestras estén bien homogeneizadas a la hora de tomar las alícuotas y hacer las diluciones seriadas.
- Los aerobios totales se cultivaron en medio PCA, bajo condiciones aerobias y con cristales de bifenilo. Se sembraron diluciones de  $10^{-2}$  –  $10^{-4}$ .
- Para estudiar los aerobios totales es muy importante hacer el recuento a los 2 – 3 días porque si no las colonias crecen demasiado y no se puede contar bien debido a que unas se superponen con otras.
- Composición de los medios de cultivo empleados:

MEDIO YPD-AGAR (YPD) (para levaduras)

<u>REACTIVOS</u>	<u>1L</u>
1% EXTRACTO DE LEVADURA	10 g
2% GLUCOSA	20 g
2% PEPTONA	20g
2% AGAR	20 g
<u>ANTIBIÓTICOS</u>	
Penicilina 50 µg/ml	
Estreptomicina 100 µg/ml	

MEDIO ACTINOMYCETE ISOLATION AGAR (Acti) (para actinobacterias, descomponedoras de materia orgánica)

<u>REACTIVOS</u>	<u>1L</u>
ACTINOMYCETES ISOLATION AGAR	22 g
GLICEROL	5 g
<u>ANTIBIÓTICOS</u>	
Nistatina 200 µg/ml	

MEDIO PLATE COUNT AGAR (PCA) (para microorganismos aerobios)

<u>REACTIVOS</u>	<u>1L</u>
PLATE COUNT AGAR	23,5 g
GLICEROL	5 g

### ANTIBIÓTICOS

Nistatina 200 µg/ml

\*Los antibióticos se añaden después de auto-clavar.

MEDIO BURK'S (para microorganismos fijadores de nitrógeno)

<u>REACTIVOS</u>		<u>1L</u>
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>		0,8 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		0,2 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O		0,2 g
NaCl		0,2 g
CaSO <sub>4</sub>		0,1 g
*Fe-Mo mixture		1ml
Sucrose		20 g
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1 mg/10 ml	1 ml
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1 mg/10 ml	1 ml
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	1 mg/10 ml	100 µl
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	3 mg/10 ml	10 µl
KI	1mg/10 ml	10 µl
Agua destilada		1 L
Agar		20 g
Ajustar pH a 7.3		
Nistatina		0,2 g
*Fe-Mo mixture:		
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	1,45 g	
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,253 g	
Agua destilada	100 ml	

**3.10 Análisis estadístico de los datos:** se realizó el análisis de varianzas (ANOVA) y de componentes principales empleando el software SPSS (v22.0 para Windows; IBM-SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Resultados edafológicos

Los datos de los análisis químicos del suelo de cada una de las parcelas se recogen en el anexo I.

- Textura y pH de los suelos

Tal y como se indica en el apartado de Métodos, los resultados edafológicos de textura y pH se basan en una muestra homogeneizada de las cinco réplicas de cada parcela, e indican que la situación de partida del suelo de cada una de las parcelas presenta diferencias significativas en varios parámetros que se muestran a continuación.

**Tabla 1.** Composición y pH del suelo de cada una de las parcelas estudiadas

Determinación	PARCELA			
	SIN CUBIERTA	CON CUBIERTA	PENDIENTE	ECOLÓGICA
ARENA %	49,3	42,1	13,7	67,1
LIMO %	36,5	44,1	59,0	24,0
LIMO-SI %	23,7	29,4	44,0	13,8
ARCILLA %	14,1	13,9	27,4	8,90
pH	8,3	8,1	8,2	8,1

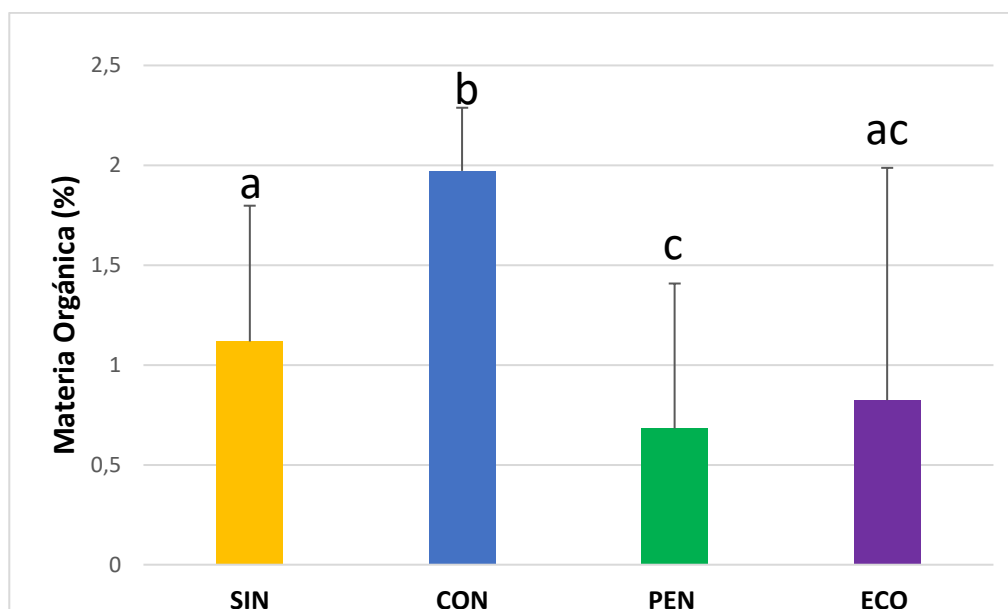
Los valores de pH son muy similares entre las parcelas, variando de 8,1 hasta 8,3, teniendo un carácter básico ligeramente alcalino. Al no ser un pH extremo, son considerados adecuados para la actividad microbiana, ya que estos pH no limitan la descomposición de la materia orgánica, fijación de N<sub>2</sub> o la nitrificación ([Delgado and Gómez, 2016](#)).

En cuanto a la granulometría, el cultivo en pendiente y el ecológico muestran una clara diferencia al resto de cultivos. Por un lado, la pendiente, contiene una mayor proporción de arcilla (27,4%) y menor en arena (13,7%), por lo que este dato se tendrá que tener en cuenta cuando se vayan a interpretar los resultados agronómicos y microbiológicos. Un mayor contenido en arcilla favorece a la retención de agua y, nutrientes. Por otro lado, el ecológico, presenta un mayor contenido en arena (67,1%) que de arcilla (8,1%), por lo que al considerarse un suelo arenoso la capacidad para retener la humedad es muy baja y tenderá a secarse por su buena aireación. Además, un suelo arenoso, como el ecológico, posee baja fertilidad ([Andrades y Martínez, 2014](#)) necesitando aportes de elementos tanto orgánicos como inorgánicos para una producción optimizada.

En las siguientes tablas se muestran los resultados de interés edáfico obtenidos de las muestras tomadas en primavera (24/06/2017) para después, realizar un análisis microbiológico:

- Materia orgánica

**Fig. 12.** Contenido en materia orgánica del suelo de cada una de las parcelas estudiadas.



Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores.

SIN: parcela control, sin cubierta vegetal. CON: parcela con cubierta vegetal. PEN: parcela en pendiente. ECO: parcela con manejo ecológico.

La proporción de materia orgánica en un suelo depende principalmente de la textura del suelo, del pH y del material vegetal. Una adecuada proporción de materia orgánica protege al suelo frente a la erosión, favorece la formación de una buena estructura porque ayuda a la retención de agua y la aireación del suelo. Además, también favorece aumentando la capacidad total de cambio, ayudando a generar una buena reserva de elementos nutritivos (Andrades y Martínez, 2014).

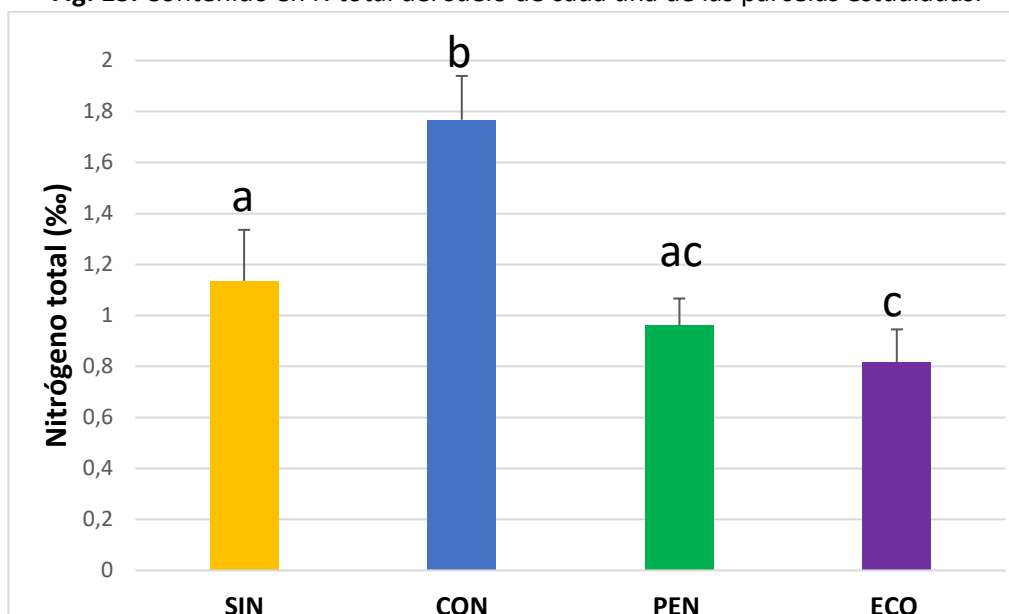
Los valores de materia orgánica de las muestras analizadas presentan diferencias importantes. Por un lado, el cultivo con cubierta vegetal destaca en contenido ( $1,97\% \pm 0,22$ ) frente a los demás cultivos. Por otro lado, el cultivo sin cubierta presenta valores algo inferiores al anterior ( $1,12\% \pm 0,68$ ). Estos valores son considerados adecuados para un suelo equilibrado, tanto biológicamente como, químicamente.

Sin embargo, los cultivos, ecológico ( $0,82\% \pm 0,23$ ) y pendiente ( $0,68\% \pm 0,14$ ) presentan valores bajos. Quizás es debido, para el caso de la pendiente, a la erosión y la lixiviación citadas anteriormente, por lo que es síntoma de desequilibrio que repercutirá negativamente en la actividad de los microorganismos al verse disminuida la disponibilidad de C como fuente de energía para la microbiota del suelo (Quemada et al., 2016).



- Nitrógeno

**Fig. 13.** Contenido en N total del suelo de cada una de las parcelas estudiadas.



Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores.

SIN: parcela control, sin cubierta vegetal. CON: parcela con cubierta vegetal. PEN: parcela en pendiente. ECO: parcela con manejo ecológico.

En cuanto al nitrógeno total, se aprecian diferencias importantes entre cultivos, siendo el cultivo con cubierta vegetal el que presenta valores superiores al resto ( $1,77\% \pm 0,17$ ) y algo inferiores para el caso del cultivo sin cubierta ( $1,14\% \pm 0,20$ ). El alto contenido en N en la parcela con cubierta vegetal podría estar relacionado, tanto con de la captación que la propia cubierta hace de nutrientes y su posterior degradación, como de una menor lixiviación de compuestos nitrogenados.

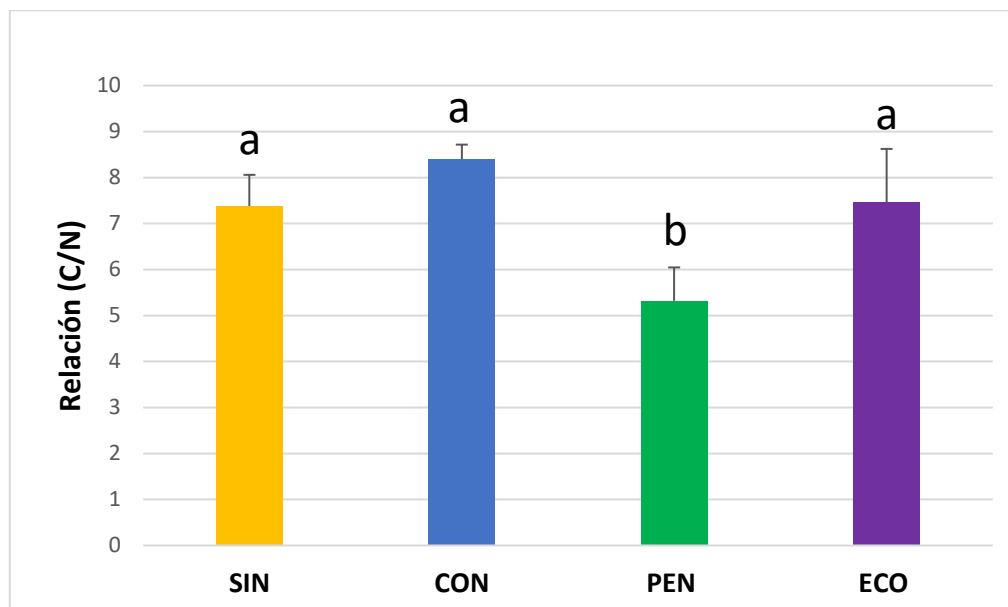
Por el contrario, el cultivo ecológico vuelve a presentar los valores más bajos ( $0,82\% \pm 0,13$ ), debiéndose a una baja fertilidad por tratarse de un suelo arenoso (67,1% en arena) con necesidad de aportar elementos orgánicos e inorgánicos ([Andrades y Martínez, 2014](#)).

Cabe señalar que los niveles de nitrógeno son próximos a 1‰, por lo que se consideran valores adecuados acordes con las buenas prácticas de abonado nitrogenado. Además, la fijación microbiana de  $N_2$  también puede actuar como fuente de nitrógeno influyendo en el contenido de nitrógeno elemental del suelo.

- Relación C/N

Este parámetro es importante a tener en cuenta ya que mide la fertilidad del suelo e influye directamente en la actividad tanto microbiana como, en los procesos de mineralización.

**Fig. 14.** Relación C/N del suelo de cada una de las parcelas estudiadas.



Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores.

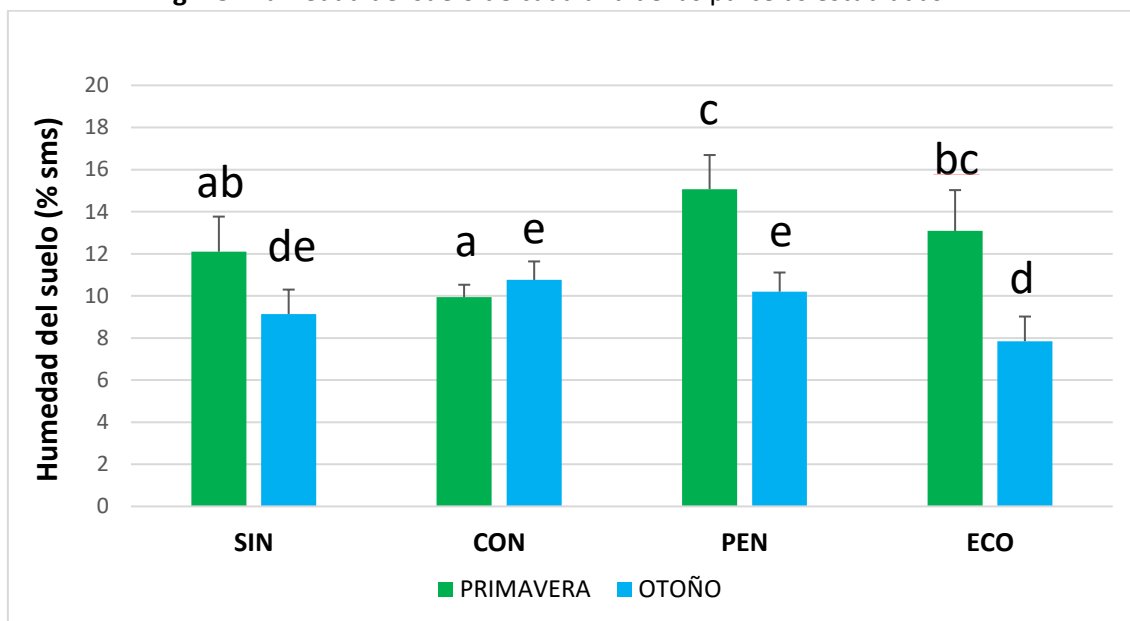
SIN: parcela control, sin cubierta vegetal. CON: parcela con cubierta vegetal. PEN: parcela en pendiente. ECO: parcela con manejo ecológico.

Los resultados obtenidos se encuentran dentro del mismo rango (C/N entre  $7,38 \pm 0,68$  y  $8,40 \pm 0,32$ ), correspondiendo a suelos de fertilidad media-baja, para todos los suelos salvo para el caso del cultivo en pendiente (C/N =  $5,32 \pm 0,73$ ) cuyo valor es inferior al resto. Esto indica que, posee menor fertilidad y peores condiciones para la actividad microbiana porque los microorganismos requieren un ratio aproximado a 8:1 (Quemada *et al.*, 2016). Existe un efecto de lixiviación de materia orgánica e inorgánica en la topografía inclinada, tanto por el agua gravitacional como, por la erosión.

- Humedad del suelo

Los datos de la humedad del suelo determinados en cada muestra de suelo y en los dos momentos estacionales se recogen en el anexo II.

**Fig. 15.** Humedad del suelo de cada una de las parcelas estudiadas.



Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores.

SIN: parcela control, sin cubierta vegetal. CON: parcela con cubierta vegetal. PEN: parcela en pendiente. ECO: parcela con manejo ecológico.

Como puede observarse en esta Fig. 15, la humedad del suelo en primavera en el mes de junio presenta diferencias significativas entre los cultivos con cubierta vegetal y con pendiente, siendo mayor el de la pendiente ( $15,07\% \pm 1,62$ ) respecto al de cubierta ( $9,93\% \pm 0,59$ ). Sin embargo, en otoño en el mes de octubre, ambas parcelas muestran datos muy similares entre sí, tanto la cubierta ( $10,76\% \pm 0,88$ ) como la pendiente ( $10,20\% \pm 0,91$ ).

Las diferencias en el mes de junio pueden explicarse porque el suelo con cubierta es más arenoso, con poros más grandes, por lo que el agua se evapora antes que, en el suelo con pendiente, con alto contenido en arcilla y con poros más pequeños. Además, el efecto de las temperaturas favorece la evaporación del agua del suelo.

En cuanto a los resultados de octubre, sin diferencias entre ambos cultivos, quizás es debido al efecto de las temperaturas más bajas en esta época del año, las cuales ayudan a una mejor conservación del agua en el suelo. Además, el suelo con mayor contenido en arcilla (cultivo pendiente) favorece la retención de agua y el de cubierta, al poseer vegetación, ayuda a mantener la humedad del suelo.

La parcela sin cubierta no muestra diferencias significativas respecto a las demás en la época de otoño, pero sí encontramos valores superiores en primavera ( $12,10\% \pm 1,67$ ) que en otoño ( $9,14\% \pm 1,16$ ). Esto se debe a que hubo una mayor precipitación acumulada en junio ( $42,40 \text{ l/m}^2$ ) que en octubre ( $21,30 \text{ l/m}^2$ ). Sin embargo, el cultivo ecológico sí muestra diferencias significativas en otoño ( $7,85\% \pm 1,17$ ), con valores inferiores a los de las parcelas con cubierta y con pendiente. La razón por la que ocurre esto es el mayor contenido en arena ( $67,1\%$ ) que en arcilla ( $8,1\%$ ), ya que los suelos

arenosos retienen poco la humedad y tienden a secarse por presentar una buena aireación (Andrades y Martínez, 2014).

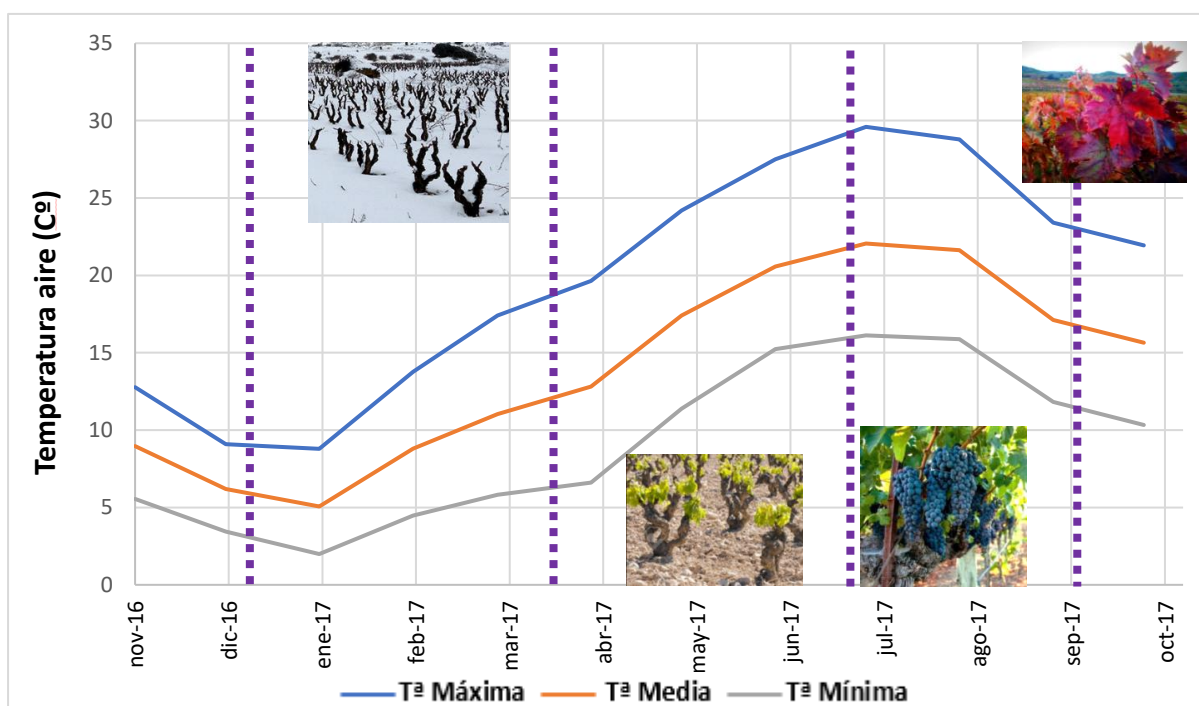
La disponibilidad de agua es un factor muy importante para determinar la diversidad, abundancia y distribución de microorganismos en los suelos (Holland *et al.*, 2012), y como se verá en el apartado 1.4 de Resultados microbiológicos, la abundancia de microorganismos se ve afectada por la proporción de humedad en el suelo.

## 4.2 Resultados agroclimáticos

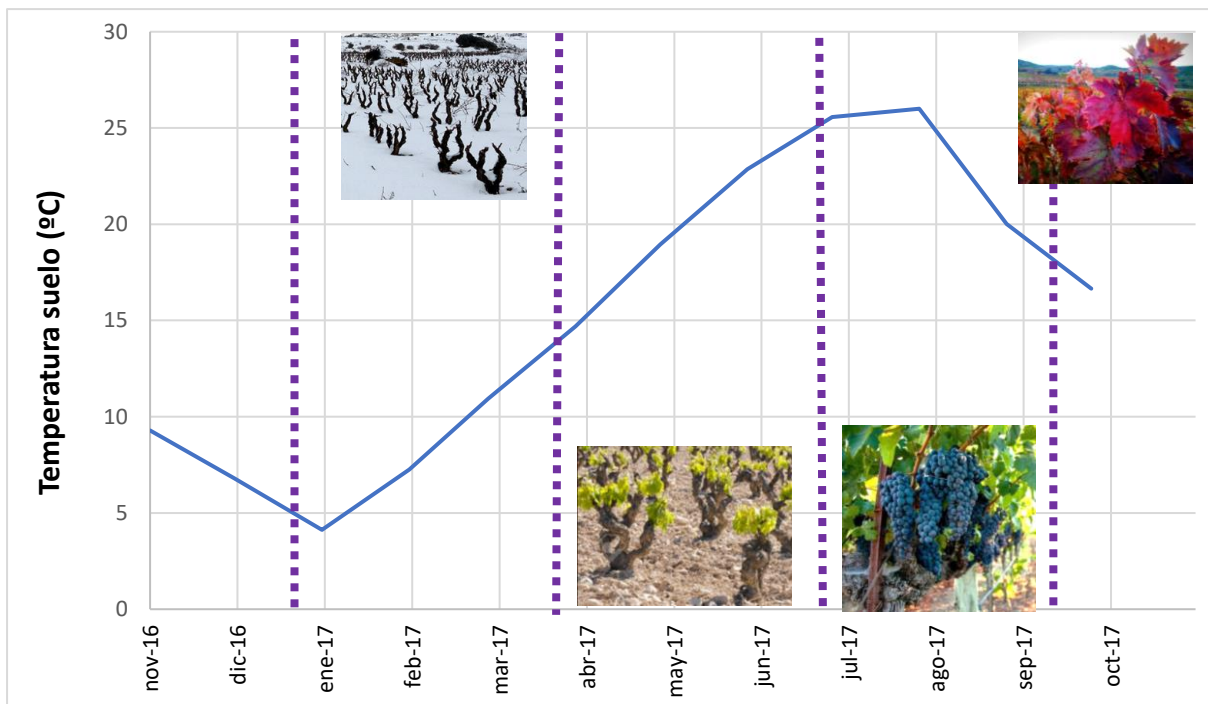
Los datos agroclimáticos recogidos se reflejan en el anexo III.

Parámetros abióticos, como la temperatura y la humedad del suelo, pueden influir en la estructura microbiana del suelo (Corneo *et al.*, 2013) y se muestran en las figuras siguientes.

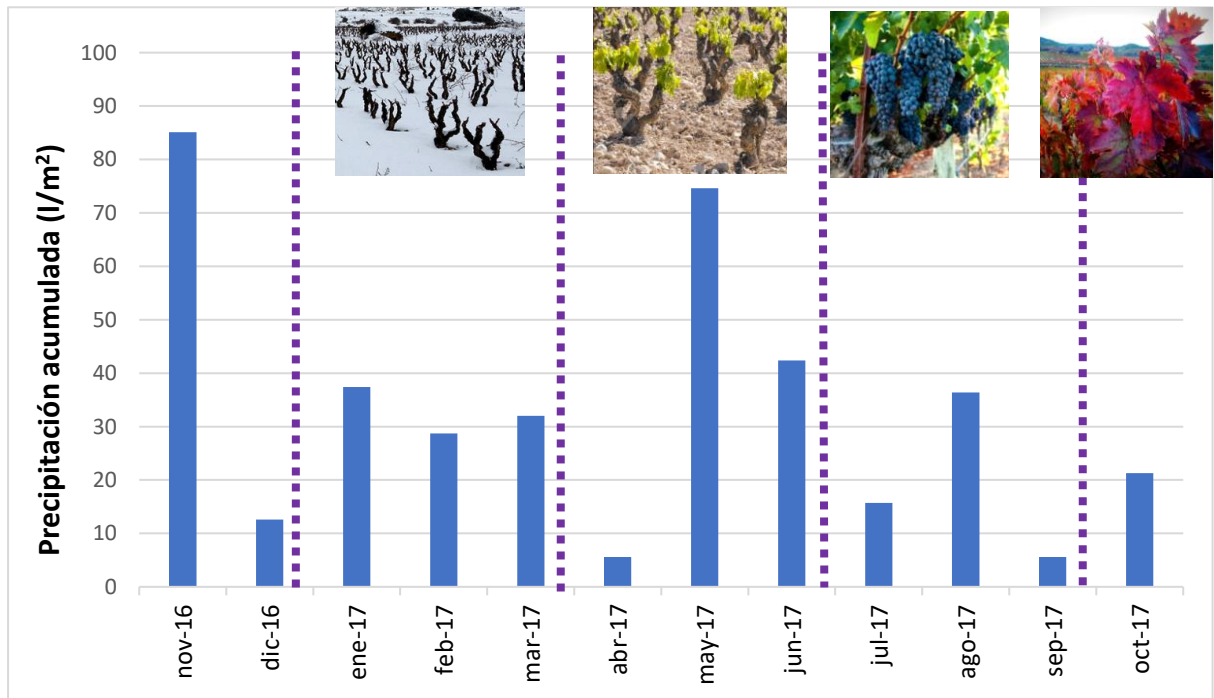
Fig. 16. Temperatura del aire.



**Fig. 17.** Temperatura del suelo.



**Fig. 18.** Precipitación acumulada.



Puede observarse que como cabía esperar, en la época de primavera (muestreo de junio) tanto las temperaturas del aire y del suelo como la precipitación acumulada presentan valores superiores a los del otoño, y se corresponden con los valores más

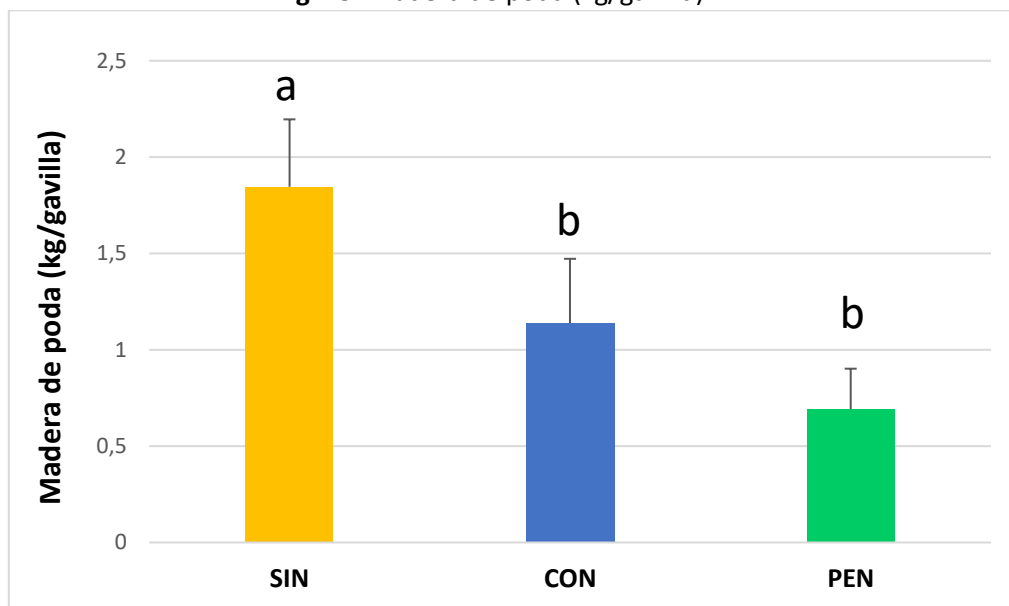
elevados de humedad del suelo en las parcelas sin cubierta vegetal, en pendiente y con manejo ecológico del muestreo de primavera, tal y como se ha mencionado anteriormente. El suelo con cubierta vegetal es el que presenta menos variaciones en su grado de humedad a lo largo del periodo de tiempo estudiado (Fig. 18), indicando con ello la capacidad amortiguadora de la cubierta vegetal para mantener la humedad del suelo.

#### 4.3 Resultados de la producción y calidad de la uva

- Madera de poda

Los datos referidos a la madera de poda se recogen en el anexo IV y se muestran en la Figura 19.

**Fig. 19.** Madera de poda (kg/gavilla).



Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores.

\*La madera de la parcela con cultivo ecológico no pudo ser recogida por cuestiones técnicas y de gestión del viñedo.

La cantidad de madera de poda generada nos da una idea de la capacidad productiva o del vigor de las plantas. Los resultados de la figura muestran diferencias significativas, siendo mayor la cantidad de madera de poda generada en la parcela sin cubierta vegetal (1,846 kg/gavilla  $\pm$  0,35) que en los cultivos en pendiente (0,692 kg/gavilla  $\pm$  0,21) y con cubierta vegetal (1,138 kg/gavilla  $\pm$  0,33). Estos resultados son los esperados ya que el cultivo en pendiente posee valores bajos en la relación C/N y de materia orgánica, lo cual frena el crecimiento de las plantas de vid. Además, en el cultivo con cubierta vegetal existe una competencia de nutrientes del suelo entre las vides y la cubierta vegetal, por lo que el crecimiento o vigor de las plantas queda limitado por dichos factores.

- Control de uva

Los datos analizados sobre el control de uva se recogen en el anexo V y en la tabla 3 se muestran los resultados del análisis.

**Tabla. 2.** Producción de uva en cada una de las parcelas de viñedos estudiadas.

Parcela	Media y desviación estándar kg /cepa	Media y desviación estándar kg/racimo	Media y desviación estándar g/100 bayas
SIN	9,96±1,40 ab	0,33±0,03 bc	182,74±5,24 b
CON	8,60±0,72 a	0,29±0,04 ab	157,52±12,37 a
PEN	8,24±3,22 a	0,23±0,03 a	158,63±10,14 a
ECO	14,76±4,95 b	0,37±0,04 c	166,49±14,53 ab

Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores

**Tabla. 3.** Parámetros de la uva analizados.

Parcela	Media y desviación estándar °Brix	Media y desviación estándar Grado alcohólico probable (vol%)	Media y desviación estándar pH	Media y desviación estándar Acidez total (g/L)
SIN	24,85±0,62 b	14,74±0,43 b	3,68±0,09 a	6,00±0,42 a
CON	23,90±0,93 b	14,08±0,65 b	3,80±0,08 a	6,47±0,46 a
PEN	23,95±0,97 b	14,10±0,65 b	3,81±0,07 a	6,27±0,41 a
ECO	21,82±0,45 a	12,65±0,31 a	3,69±0,05 a	8,33±0,39 b

Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores

SIN: parcela control, sin cubierta vegetal. CON: parcela con cubierta vegetal. PEN: parcela en pendiente. ECO: parcela con manejo ecológico.

Los datos de control de uva de las tablas anteriores muestran diferencias significativas tanto en la producción como en los parámetros de la uva analizados, salvo el caso del pH que no muestra diferencias entre los diferentes tratamientos.

El peso medio de racimos obtenido de 4 cepas de vid (kg/cepa) y los valores de kg/racimo muestran que el cultivo ecológico posee resultados mayores que los cultivos en pendiente y con cubierta vegetal. En cuanto el peso por bayas (g/100 bayas), los cultivos con cubierta (157,52 g ± 12,37) y en pendiente (158,63 g ± 10,14) presentaron los valores inferiores. Estos resultados se deben posiblemente a que los cultivos con

cubierta vegetal y en pendiente poseen una menor disponibilidad de nutrientes, ya que la cubierta vegetal compite en nutrientes con las vides y la pendiente posee valores bajan tanto en materia orgánica como, en la relación C/N (Fig. 14).

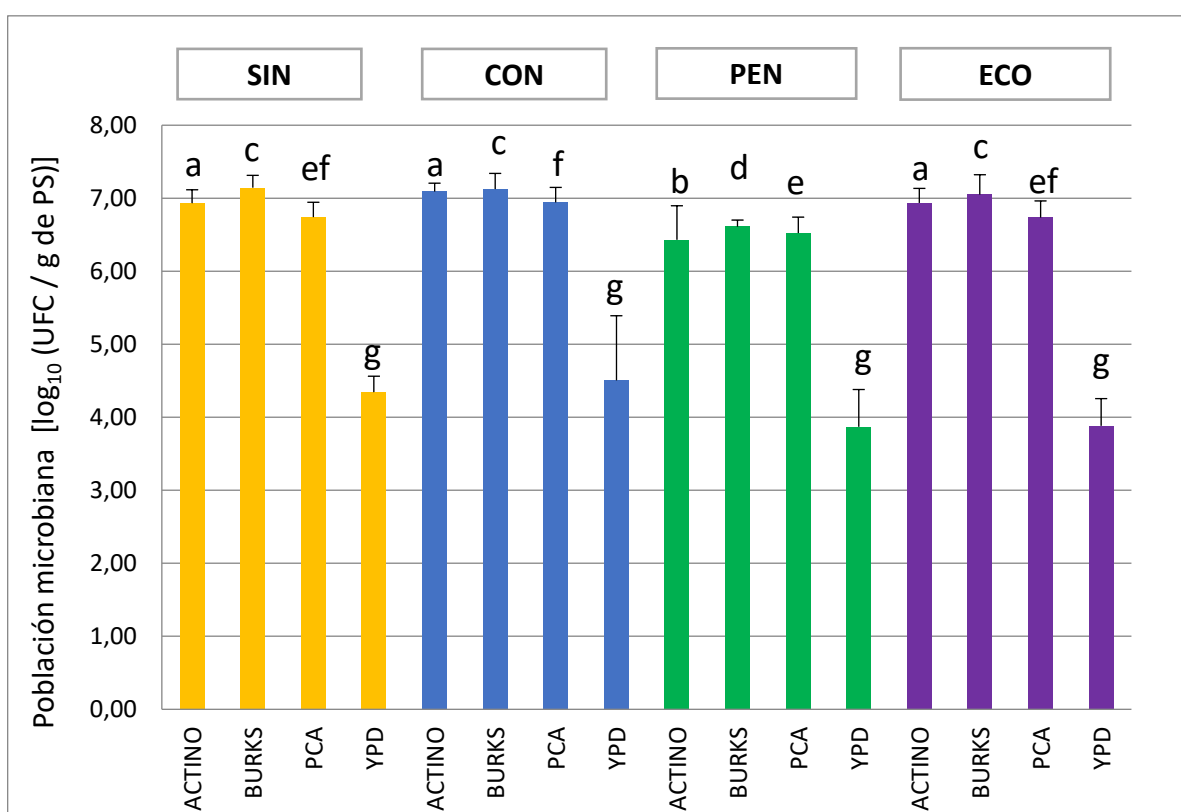
En cuanto a los parámetros de °Brix y grado alcohólico probable, el cultivo ecológico presenta los valores más bajos, mientras que la acidez total presenta el valor más alto, lo cual concuerda con su mayor producción en cantidad y peso de uva.

#### 4.4 Resultados microbiológicos

Todos los datos de recuentos de colonias de los cultivos de las muestras de suelos estudiados se muestran en el anexo VI.

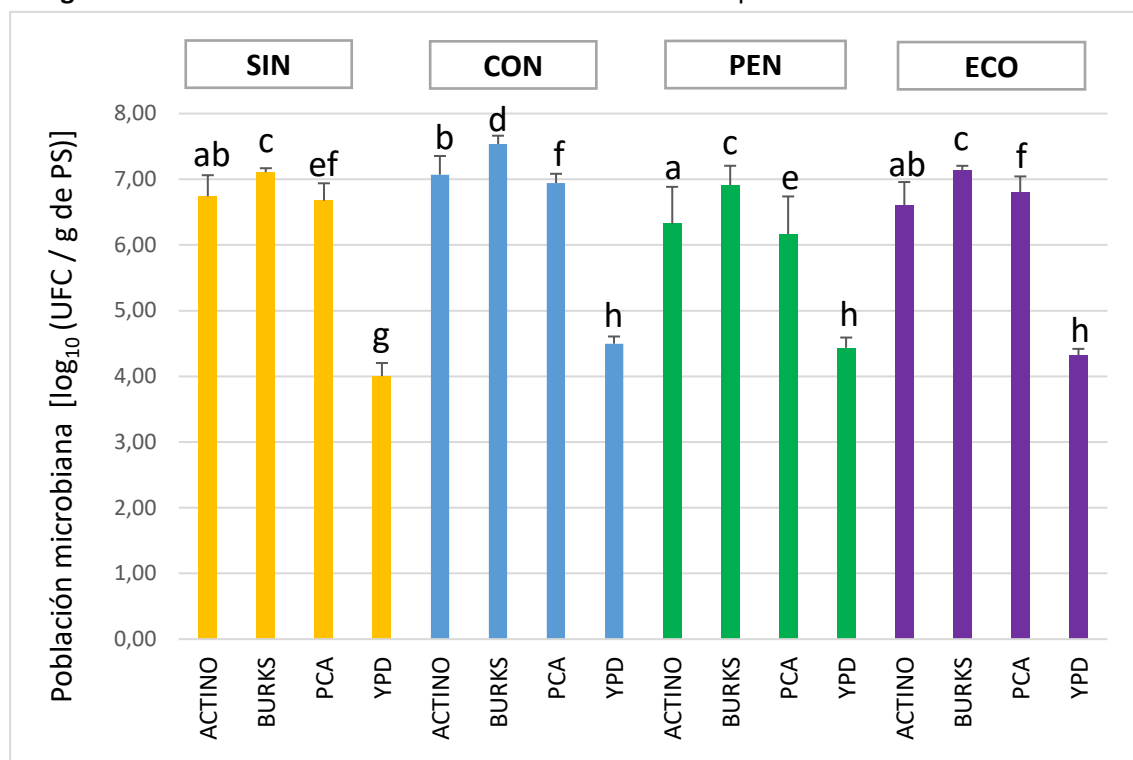
A continuación, se presentan las figuras con los resultados de las poblaciones microbianas de los suelos en los dos tiempos estudiados de primavera y otoño.

**Fig. 20.** Población microbiana del suelo de cada una de las parcelas estudiadas en junio.





**Fig. 21.** Población microbiana del suelo de cada una de las parcelas estudiadas en octubre.



Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores (ANOVA entre valores de una misma familia de microorganismos para las distintas parcelas de viñedo).

ACTINO: actinomicetos, descomponedores de materia orgánica. BURKS: fijadores de nitrógeno. PCA: microorganismos aerobios totales. YPD: levaduras y hongos.

SIN: parcela sin cubierta vegetal. CON: parcela con cubierta vegetal. PEN: parcela en pendiente. ECO: parcela con manejo ecológico.

## PRIMAVERA:

La figura 20 de poblaciones microbianas de los suelos en primavera, muestra que para el caso de los actinomicetos, descomponedores de materia orgánica, y de los fijadores de nitrógeno (crecen en el medio de Burk) se puede decir que los valores obtenidos para las parcelas sin cubierta, con cubierta vegetal y ecológica son mayores (órdenes próximos a  $10^7$  UFC/g PS) que el cultivo en pendiente (orden  $10^6$  UFC/g PS). El suelo en pendiente es sometido a mayor lixiviación y erosión, lo cual explica la menor cantidad de materia orgánica y menor población de actinomicetos.

Respecto a los aerobios totales, las diferencias se observan entre las parcelas con cubierta vegetal y pendiente, siendo de nuevo la pendiente la que posee valores inferiores. La parcela de cubierta vegetal destaca del resto, debido al esponjamiento del terreno por medio del sistema radicular de la cubierta vegetal, la cual favorece en la cantidad de poros para el establecimiento de este tipo de microorganismos. Mientras que la parcela en pendiente posee menor contenido en materia orgánica, sufre el efecto de la erosión y la lixiviación y, además, su contenido en arcilla reduce el número de poros. Estos resultados concuerdan con los publicados por otros autores (Likar *et al.*, 2017) en que las comunidades microbianas de los suelos del viñedo están influenciadas tanto por el manejo del viñedo como por el conjunto de factores medioambientales.

Las poblaciones de levaduras no muestran diferencias significativas entre parcelas, puesto que las poblaciones se encuentran alrededor del orden  $10^4$  UFC/g PS y son los valores más bajos de todas las poblaciones analizadas.

## OTOÑO:

La figura 21 muestra los resultados obtenidos en los análisis microbiológicos de las muestras de suelos en otoño y se observa que, de forma análoga a las poblaciones del muestreo en primavera, las poblaciones de actinomicetos muestran diferencias significativas entre la cubierta vegetal y la pendiente, siendo la población menor para el suelo del viñedo en pendiente de textura arcillosa y que sufre el efecto de erosión y la lixiviación.

Para el caso de los aerobios totales, tanto la parcela de cubierta vegetal como la ecológica presentan valores similares entre ellas, mientras que la parcela en pendiente vuelve a presentar los valores más bajos ya que sus condiciones son desfavorables para el crecimiento microbiano.

Respecto a las poblaciones de fijadores de nitrógeno, la parcela que más población presenta es la de cubierta vegetal, provista de su vegetación espontánea, mientras que la población del resto de parcelas es muy similar entre ellas, sin diferencias significativas. Otros autores también coinciden en que el uso de cubierta vegetal influye fuertemente en la riqueza microbiana del suelo ([Burns et al., 2016](#)).

Respecto a las levaduras, la población de éstas es menor en la parcela sin cubierta vegetal, siendo en el resto superior, sin diferencias entre ellas, y por encima de los valores obtenidos en primavera, como cabía esperar en el muestreo de otoño postvendimia, donde restos de uvas quedan en el suelo y aportan la microbiota asociada a la superficie del hollejo. Estos resultados están en concordancia con el hecho de que las comunidades microbianas del suelo se estructuran conforme a las prácticas agronómicas llevadas a cabo ([Burns et al., 2016](#)) y que la población de levaduras es inferior (del orden de  $10^2$  veces) a la población de bacterias, como en otros estudios similares ([Corneo et al., 2013](#)).

Globalmente, la parcela en pendiente es la que presenta en ambas estaciones del año valores inferiores de poblaciones microbianas, y es precisamente la de menor contenido en materia orgánica y relación C/N, lo cual está en concordancia con resultados de otros autores que también observan que la población microbiana del suelo del viñedo se ven afectada por factores diversos, entre los cuales se encuentran los depósitos de materia orgánica del suelo ([Burns et al., 2015](#)).

#### 4.5 Análisis de Componentes Principales

A continuación, se muestran los resultados del análisis de componentes principales realizado con los datos obtenidos en cada una de las dos estaciones del año.

##### PRIMAVERA:

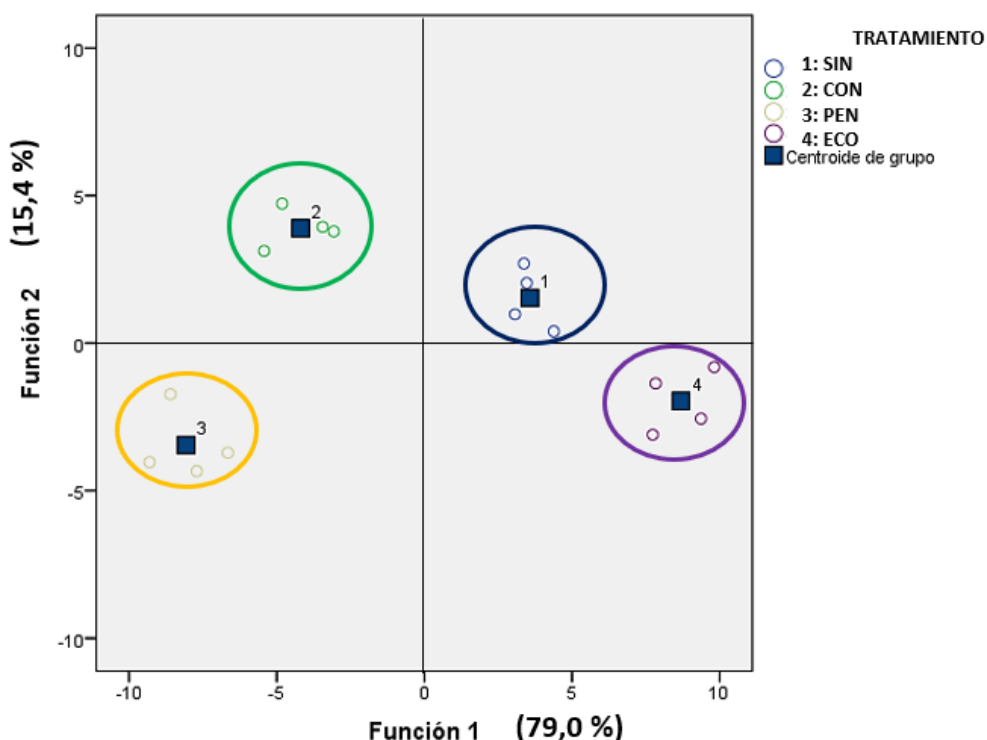
**Tabla. 4.** Autovalores del análisis de componentes principales (primavera).

Función	Autovalor	% de varianza	% acumulado	Correlación canónica
1	56,930 <sup>a</sup>	79,0	79,0	,991
2	11,093 <sup>a</sup>	15,4	94,4	,958
3	4,008 <sup>a</sup>	5,6	100,0	,895

**Tabla. 5.** Coeficientes de la función discriminante canónica estandarizadas (primavera).

	Función		
	1	2	3
Humedad junio	-1,645	-,707	-,059
Burks	1,172	,381	-,613
Nitrógeno	-1,687	,455	,554
kg uva/racimo	1,832	,541	-,272
Acidez total uva (g/L)	,397	-,452	,936

**Fig. 22.** Análisis de componentes principales de los análisis de las muestras de junio.



SIN: parcela sin cubierta vegetal. CON: parcela con cubierta vegetal. PEN: parcela en pendiente. ECO: parcela con manejo ecológico.

La Función 1 explica el 79,0% de la varianza y depende de las variables: humedad del suelo, población de fijadores de nitrógeno, crecidos en el medio de cultivo de Burk, cantidad de nitrógeno del suelo, kg uva/racimo y acidez total uva (g/L).

Se observa en la figura 22 que los datos quedan perfectamente agrupados en conjuntos homogéneos alrededor del centrómero correspondiente a cada parcela de viñedo. En el 2º cuadrante se encuentra la parcela con cubierta vegetal que presenta los valores más elevados de nitrógeno en su composición química, mientras que en el cuadrante 3º opuesto se encuentra la parcela en pendiente con valores bajos de nitrógeno y las menores poblaciones de microorganismos fijadores de nitrógeno, de actinomicetos, y la menor producción de kg de uva por racimo. En el 4º cuadrante se encuentra la parcela ecológica que presenta los niveles más bajos de nitrógeno y la mayor producción de uva por racimo, menores °Brix y menor grado probable, así como la mayor acidez. En el opuesto primer cuadrante se encuentra la parcela sin cubierta vegetal que presenta unos valores intermedios.

## OTOÑO:

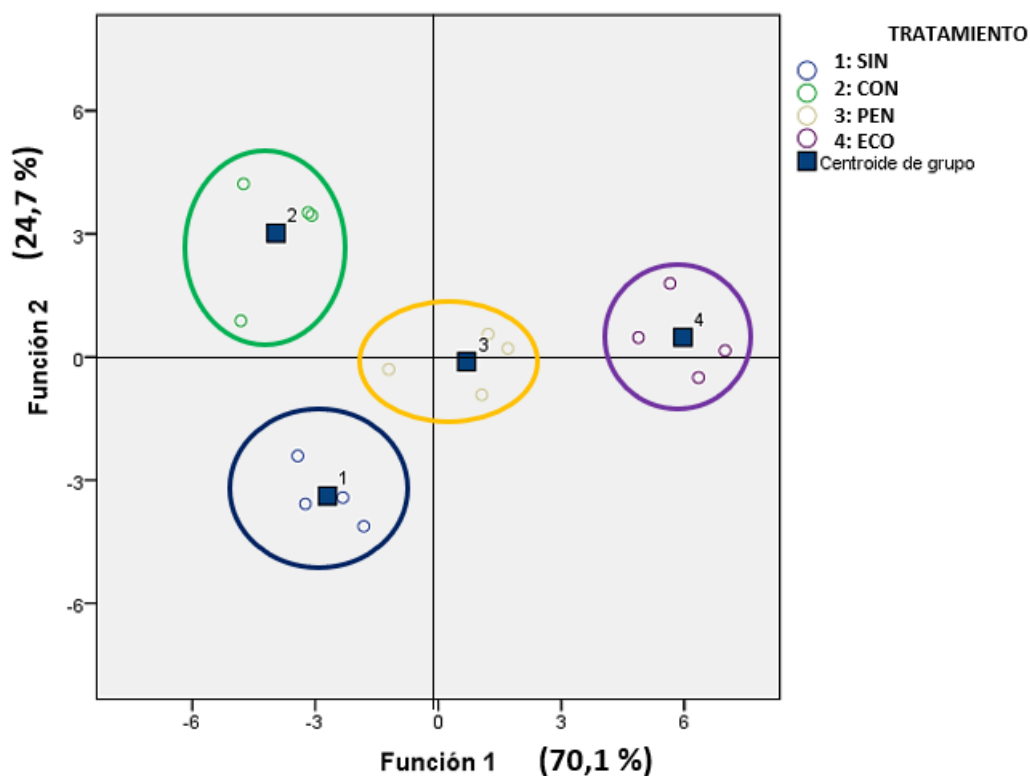
**Tabla. 6.** Autovalores del análisis de componentes principales (otoño).

Función	Autovalor	% de varianza	% acumulado	Correlación canónica
1	19,680 <sup>a</sup>	70,1	70,1	,976
2	6,932 <sup>a</sup>	24,7	94,7	,935
3	1,476 <sup>a</sup>	5,3	100,0	,772

**Tabla. 7.** Coeficientes de la función discriminante canónica estandarizadas (otoño).

	Función		
	1	2	3
Nitrógeno	-,909	,484	,373
Acidez total uva (g/L)	,980	,445	,475
YPD: levaduras	,565	,775	-,608

**Fig. 23.** Análisis de componentes principales de los análisis de las muestras de octubre.



SIN: parcela sin cubierta vegetal. CON: parcela con cubierta vegetal. PEN: parcela en pendiente. ECO: parcela con manejo ecológico.

En los resultados del muestreo de otoño (figura 23) la Función 1, que explica el 70,1% de la varianza y depende de las variables: población de levaduras por cultivo en el medio YPD, cantidad de nitrógeno del suelo, y acidez total de la uva (g/L).

En este caso también los datos quedan perfectamente agrupados alrededor del centroide correspondiente a cada parcela y de forma semejante al análisis de los datos del muestreo de primavera, en el 4º cuadrante se encuentra la parcela ecológica que presenta los niveles más bajos de nitrógeno y la mayor producción de uva por racimo, menor grado probable y la mayor acidez, y en el 2º cuadrante la parcela con cubierta vegetal con los valores más elevados de nitrógeno en la composición química del suelo. En este muestreo la parcela sin cubierta vegetal destaca por su baja población en levaduras y queda separada en el cuadrante 3º, mientras que la parcela con pendiente queda con valores intermedios en el centro del diagrama.

## 5. CONCLUSIONES

1. Se ha llevado a cabo el estudio agronómico, físico-químico y microbiológico de los suelos de cuatro parcelas de viñedo de la finca de la Grajera, obteniéndose diferencias significativas entre ellos.
2. El cultivo en pendiente fue el que presentó los valores más bajos de materia orgánica y de relación C/N del suelo. En cuanto a la producción de uva y madera de poda, también mostró los valores más bajos junto con el cultivo con cubierta vegetal. Estos resultados concuerdan con los del análisis de microorganismos fijadores de nitrógeno, actinomicetos descomponedores de la materia orgánica y aerobios totales, cuyas poblaciones fueron las más bajas, tanto en la primavera como en otoño.
3. La parcela con cubierta vegetal presentó los valores más altos de materia orgánica y de contenido en nitrógeno del suelo, y estos resultados se correlacionan con la población más elevada de fijadores de nitrógeno, aerobios totales y descomponedores de materia orgánica que presentó este suelo de viñedo en el muestreo final de otoño. Su producción de uva y de madera de poda fue baja y similar a los valores de la parcela con pendiente.
4. La parcela con cultivo ecológico presentó los valores más altos de producción de uva (kg/cepa y kg/racimo), los más bajos en °Brix y grado alcohólico probable, y el valor más alto en acidez total. Sus poblaciones microbianas de fijadores de nitrógeno, aerobios totales y descomponedores de materia orgánica y su contenido en materia orgánica y relación C/N fueron muy similares a los de la parcela convencional y suelo sin cubierta vegetal.
5. Las poblaciones de levaduras presentes en el suelo en todos los casos fueron del orden de  $10^3$  veces inferiores a las poblaciones de los otros microorganismos estudiados, y en el muestreo postvendimia de otoño alcanzaron valores algo más elevados.
6. El manejo del cultivo y las características topográficas del viñedo tienen un efecto sobre la microbiota presente en el suelo que presenta diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones de las distintas familias de microorganismos estudiados.

## 6. REFERENCIAS

- Andrades, M. y Martínez, M.<sup>a</sup>.E. (2014). *Fertilidad del suelo y parámetros que la definen*. (Universidad de La Rioja, Servicio de Publicaciones), pp. 29. ISBN 978-84-695-9286-1
- Belda, I., Zarraonaindia, I., Perisin, M., Palacios, A. and Acedo, A. (2017). From Vineyard Soil to Wine Fermentation: Microbiome Approximations to Explain the “terroir” Concept. *Microbiome in Enology and Viticulture Microbiol.* 8:821. doi: 10.3389/fmicb.2017.00821
- Bienes, R., Marqués, M.J., Ruíz-Colmenero, M. (2012). Herbaceous crops, vineyards and olive groves. *The traditional land management and its impact on water erosion. Cuadernos de Investigación Geográfica* 38, pp.49-74, ISSN 0211-6820
- Bokulich N.A., Thorngate J.H., Richardson P.M., Mills D.A. (2014). Microbial biogeography of wine grapes is conditioned by cultivar, vintage, and climate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 111, E139 –E14
- Bokulich, N.A., Collins, T.S., Masarweh, C. Allen, G., Heymann, H. Ebeler, S.E., Mills, D.A. (2016). Associations among wine grape microbiome, metabolome, and fermentation behavior suggest microbial contribution to regional wine characteristics. *mBio* 7(3): e00631-16.
- Burns, K.N., Kluepfel, D.A., Strauss, S.L., Bokulich, N.A., Cantu, D., and Steenwerth, K.L. (2015). Vineyard soil bacterial diversity and composition revealed by 16S rRNA genes: differentiation by geographic features. *Soil Biology and Biochemistry* 91, 232-247. doi: 10.1016/j.soilbio.2015.09.002
- Burns K. N., Bokulich N. A., Cantu D., Greenhut R. F., Kluepfel D. A., O'Geen A. T., Strauss S. L., and Steenwerth K. L. (2016). Vineyard soil bacterial diversity and composition revealed by 16S rRNA genes: differentiation by vineyard management. *Soil Biology and Biochemistry* 103, 337348. doi: 10.1016/j.soilbio.2016.09.007
- Corneo, P. E., Pellegrini, A., Cappellin, L., Roncador, M., Chierici, M., Gessler, C., and Pertot, I. (2013). Microbial community structure in vineyard soils across altitudinal gradients and in different seasons. *FEMS Microbiology Ecology* 84, 588-602. doi: 10.1111/1574-6941.12087
- Delgado, A. and Gómez, J.A. (2016). The soil. Physical, Chemical and Biological Properties. Principles of Agronomy for Sustainable Agriculture (Villalobos, F.J., and Fereres, E., eds.), pp. 15-26. *Springer International Publishing*. doi: 10.1007/978-3-319-46116-8\_2
- Holland, T.C., Reynolds, A.G., Bowen, P.A., Bogdanoff, C.P., Marciniak, M., Brown, R.B. and Hart, M.M. (2012). The response of soil biota to water availability in vineyards. *International Journal of Soil Biology* 56, 9-14. doi: 10.1016/j.pedobi.2012.08.004



Likar, M., Stres, B., Rusjan, D., Potisek, M., Regvar, M. (2017). Ecological and conventional viticulture gives rise to distinct fungal and bacterial microbial communities in vineyard soils. *Applied Soil Ecology* 113, 86-95. doi: 10.1016/j.apsoil.2017.02.007

Lupatini, M., Korthals, G.W., de Hollander, M., Janssens, T.K.S., and Kuramae, E.E. (2017). Soil microbiome is more heterogeneous in organic than in conventional farming system. *Frontiers in Microbiology* 7:2064. doi: 10.3389/fmicb.2016.02064

Pérez-Álvarez, E. P., García-Escudero, E. and Peregrina, F. (2015). Soil Nutrient Availability under Cover Crops: Effects on Vines, Must, and Wine in a Tempranillo Vineyard. *Am. J. Enol. Vitic.* 66:3, doi: 10.5344/ajev.2015.14092

Pérez-Álvarez, E. P., Garde-Cerdán, T., Santamaría, P., García-Escudero, E. and Peregrina, F. (2015). - Influence of two different cover crops on soil N availability, N nutritional status, and grape yeast-assimilable N (YAN) in a cv. Tempranillo vineyard. *Plant Soil* 390:143-156. doi: 10.1007/s11104-015-2387-7

Probst, B., Schüller, C. and Joergensen, R.G. (2008). Vineyard soils under organic and conventional management—microbial biomass and activity indices and their relation to soil chemical properties. *Biol Fertil Soils* 44:443–450. doi: 10.1007/s00374-007-0225-7

Quemada, M., Delgado, A., Mateos, L., and Villalobos, F. J. (2016). Nitrogen fertilization I: the nitrogen balance. Principles of Agronomy for Sustainable Agriculture (Villalobos, F.J., Fereres, E., eds.), pp. 341-368. *Springer International Publishing*. doi: 10.1007/978-3-319-46116-8\_2

Ugarte, J. (2017). Trabajo Fin de Grado: Estudio comparativo de suelos y sistemas de manejo del viñedo (Universidad de La Rioja).

Walkley-Black. (1994). *Métodos oficiales de análisis del MAPA*: tomo III, pág. 281

Zarraonaindia I, Owens SM, Weisenhorn P, West K, Hampton-Marcell J, Lax S, Bokulich NA, Mills DA, Martin G, Taghavi S, van der Lelie D, Gilbert JA. (2015). The soil microbiome influences grapevine-associated microbiota. *MBio.* 6(2). pii: e02527-14. doi: 10.1128/mBio.02527-14.

#### **Páginas de internet consultadas**

- <https://es.riojawine.com/es/>
- <http://www.larioja.org/agricultura/es/informacion-agroclimatica/datos-estaciones>
- <https://www.biodivine.eu/news.php?lang=sp>
- <https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/survey/class/taxonomy>

## 7. ANEXOS

Anexo I: Relación C/N, contenido en N y contenido en MO oxidable de las muestras analizadas.

Repetición	Relación C/N	Media y desviación estándar	Materia Orgánica Oxidable (%)	Media y desviación estándar
SIN1.T2	7,8	7,38±0,68	1,03	1,12±0,68
SIN2.T2	7,3		0,97	
SIN3.T2	6,4		0,87	
SIN4.T2	7,2		1,14	
SIN5.T2	8,2		1,58	
CON1.T2	8,7	8,40±0,32	1,99	1,97±0,68
CON2.T2	7,9		1,83	
CON3.T2	8,3		1,78	
CON4.T2	8,5		2,33	
CON5.T2	8,6		1,93	
PEN1.T2	4,5	5,32±0,73	0,56	0,68±0,14
PEN2.T2	4,6		0,56	
PEN3.T2	6,1		0,79	
PEN4.T2	5,8		0,87	
PEN5.T2	5,6		0,63	
ECO1.T2	8,3	7,46±1,16	1,05	0,82±0,23
ECO2.T2	5,8		0,49	
ECO3.T2	7,3		0,74	
ECO4.T2	8,8		1,04	
ECO5.T2	7,1		0,80	

Repetición	Nitrógeno total (%)	Media y desviación estándar
SIN1.T2	0,99	1,14±0,20
SIN2.T2	1,00	
SIN3.T2	1,03	
SIN4.T2	1,20	
SIN5.T2	1,46	
CON1.T2	1,73	1,77±0,17
CON2.T2	1,75	
CON3.T2	1,61	
CON4.T2	2,06	
CON5.T2	1,69	
PEN1.T2	0,93	0,96±0,10
PEN2.T2	0,92	
PEN3.T2	0,98	
PEN4.T2	1,13	
PEN5.T2	0,85	
ECO1.T2	0,96	0,82±0,13
ECO2.T2	0,63	
ECO3.T2	0,76	
ECO4.T2	0,89	
ECO5.T2	0,85	

Anexo II: Resultados de la humedad del suelo por estaciones (primavera y otoño).

REPETICIÓN	HUMEDAD JUNIO (%)	Media y desviación estándar	HUMEDAD OCTUBRE (%)	Media y desviación estándar
SIN 1	12,32	12,10±1,67	7,73	9,14±1,16
SIN 2	12,33		8,29	
SIN 3	10,49		9,13	
SIN 4	10,72		9,97	
SIN 5	14,65		10,56	
CON 1	9,52	9,93±0,59	11,43	10,76±0,88
CON 2	9,85		9,25	
CON 3	9,86		10,94	
CON 4	10,95		10,83	
CON 5	9,5		11,33	
PEN 1	16,24	15,07±1,62	9,38	10,20±0,91
PEN 2	16,24		9,50	
PEN 3	15,02		11,17	
PEN 4	12,32		11,20	
PEN 5	15,52		9,76	
ECO 1	12,92	13,08±1,94	7,83	7,85±1,17
ECO 2	12,43		6,92	
ECO 3	11,06		6,46	
ECO 4	12,71		9,13	
ECO 5	16,3		8,88	

Anexo III: Datos agroclimáticos recogidos de la estación de La Grajera.

Fecha	Precipitación acumulada (l/m2)	Temperatura aire (°C)			Temperatura suelo (°C)
		Tª Máxima	Tª Media	Tª Mínima	
nov-16	85,10	12,77	8,96	5,56	9,28
dic-16	12,60	9,09	6,20	3,45	6,79
ene-17	37,40	8,79	5,06	1,99	4,12
feb-17	28,70	13,76	8,80	4,48	7,26
mar-17	32,00	17,42	11,03	5,82	10,93
abr-17	5,60	19,64	12,81	6,61	14,69
may-17	74,60	24,19	17,40	11,39	18,95
jun-17	42,40	27,50	20,58	15,23	22,86
jul-17	15,70	29,60	22,06	16,12	25,57
ago-17	36,40	28,79	21,62	15,88	26,00
sep-17	5,60	23,40	17,13	11,81	20,01
oct-17	21,30	21,93	15,65	10,33	16,65

Anexo IV: Datos de madera de poda: conteo de sarmientos y pesaje de la madera de poda.

SARMIENTOS:

Repetición	Cepa	Número de sarmientos	Media y desviación estándar	Media y desviación estándar
CON 1	1	7	6,75±0,96	5,85±1,28
	2	6		
	3	8		
	4	6		
CON 2	1	3	5,5±3,00	
	2	7		
	3	9		
	4	3		
CON 3	1	4	5,25±0,96	
	2	5		
	3	6		
	4	6		
CON 4	1	3	4,25±0,96	
	2	4		
	3	5		
	4	5		
CON 5	1	10	7,5±2,38	
	2	5		
	3	9		
	4	6		
SIN 1	1	5	6,5±1,73	
	2	6		
	3	6		
	4	9		
SIN 2	1	5	6,25±	
	2	7		
	3	7		
	4	6		
SIN 3	1	6	7±0,82	
	2	7		
	3	8		
	4	7		
SIN 4	1	9	8±1,15	
	2	7		
	3	9		
	4	7		
SIN 5	1	6	6±0,82	
	2	6		
	3	7		
	4	5		



Repetición	Cepa	Número de sarmientos	Media y desviación estándar	Media y desviación estándar
PEN 1	1	5	4±1,41	6,4±2,07
	2	5		
	3	2		
	4	4		
PEN 2	1	6	4,75±2,75	
	2	2		
	3	3		
	4	8		
PEN 3	1	10	9±2,16	
	2	11		
	3	9		
	4	6		
PEN 4	1	10	7,75±2,63	
	2	4		
	3	9		
	4	8		
PEN 5	1	10	6,5±3,51	
	2	3		
	3	4		
	4	9		

MADERA DE PODA:

Repetición	CEPA	kg/gavilla	Media y desviación estándar
PEN 1	1	0,48	0,692±0,21
	2		
	3		
	4		
PEN 2	1	0,59	
	2		
	3		
	4		
PEN 3	1	1,01	
	2		
	3		
	4		
PEN 4	1	0,59	
	2		
	3		
	4		
PEN 5	1	0,79	
	2		
	3		
	4		

Repetición	CEPA	kg/gavilla	Media y desviación estándar
CON 1	1	1,49	1,138±0,33
	2		
	3		
	4		
CON 2	1	0,82	
	2		
	3		
	4		
CON 3	1	0,96	
	2		
	3		
	4		
CON 4	1	0,91	
	2		
	3		
	4		
CON 5	1	1,51	
	2		
	3		
	4		
SIN 1	1	1,56	1,846±0,35
	2		
	3		
	4		
SIN 2	1	1,93	
	2		
	3		
	4		
SIN 3	1	2,35	
	2		
	3		
	4		
SIN 4	1	1,92	
	2		
	3		
	4		
SIN 5	1	1,47	
	2		
	3		
	4		

Anexo V: Resultados de la producción y control de uva.

Repetición	racimos VID1	racimos VID2	racimos VID3	racimos VID4	Racimos totales	kg totales 4 vides	Media y desviación estándar	kg/racimo	Media y desviación estándar
SIN1	5	14	4	6	29	8,6	9,96±1,40	0,30	0,33±0,03
SIN2	10	7	7	8	32	11,4		0,36	
SIN3	7	5	4	16	32	9,8		0,31	
SIN4	7	9	4	5	25	8,6		0,34	
SIN 5	10	7	10	6	33	11,4		0,35	
CON1	10	3	7	9	29	7,8	8,6±0,72	0,27	0,29±0,04
CON2	3	15	8	8	34	8,8		0,26	
CON3	9	2	11	3	25	8,0		0,32	
CON4	6	8	6	5	25	8,8		0,35	
CON5	4	4	13	17	38	9,6		0,25	
PEN1	6	8	1	6	21	5,0	8,24±3,22	0,24	0,23±0,03
PEN2	7	4	9	4	24	5,8		0,24	
PEN3	9	16	7	11	43	10,8		0,25	
PEN4	10	12	10	6	38	7,2		0,19	
PEN5	12	11	17	9	49	12,4		0,25	
ECO1	11	2	2	6	21	8,0	14,76±4,95	0,38	0,37±0,04
ECO2	11	11	10	19	51	18,0		0,35	
ECO3	9	6	9	15	39	12,0		0,31	
ECO4	14	8	9	8	39	15,2		0,39	
ECO5	15	15	6	13	49	20,6		0,42	

Repetición	g/100 bayas	Media y desviación estándar Media	° Brix	Media y desviación estándar	Grado alcohólico probable (% vol.)	Media y desviación estándar	pH	Media y desviación estándar	Acidez Total (g/L)	Media y desviación estándar
SIN1	187,12	182,74±5,24	24,9	24,85±0,62	14,78	14,74±0,43	3,72	3,68±0,09	5,88	6,00±0,42
SIN2	175,12		24,5		14,50		3,56		6,59	
SIN3	184,44		24,3		14,35		3,68		5,60	
SIN4	184,27		25,7		15,32		3,77		5,92	
CON1	172,1	157,52±12,37	25,0	23,90±0,93	14,84	14,08±0,65	3,86	3,80±0,08	6,41	6,47±0,46
CON2	142,71		22,8		13,31		3,74		6,61	
CON3	153,95		23,6		13,87		3,88		5,88	
CON4	161,33		24,2		14,28		3,73		6,99	
PEN1	146,39	158,63±10,14	23,4	23,95±0,97	13,73	14,10±0,65	3,75	3,81±0,07	6,53	6,27±0,41
PEN2	166,41		25,2		14,93		3,87		5,88	
PEN3	167,50		23,0		13,45		3,74		6,71	
PEN4	154,22		24,2		14,28		3,86		5,95	
ECO1	152,94	166,49±14,53	22,2	21,83±0,45	12,90	12,65±0,31	3,76	3,69±0,05	8,39	8,33±0,39
ECO2	181,19		21,6		12,49		3,68		7,98	
ECO3	176,72		22,2		12,90		3,63		8,85	
ECO4	155,12		21,3		12,29		3,7		8,10	

Anexo VI: Resultados microbiológicos de primavera y otoño:

<b>Muestra PRIMAVERA</b>	<b>Medio</b>	<b>Media (UFC/g PS tierra)</b>	<b>log 10(UFC/g PS tierra)</b>	<b>Media y desviación estándar log 10(UFC/g PS tierra)</b>
control 1	ACTINO	1,07E+07	7,03	6,93±0,18
control 2	ACTINO	4,96E+06	6,70	
control 3	ACTINO	6,85E+06	6,84	
control 4	ACTINO	8,55E+06	6,93	
control 5	ACTINO	1,49E+07	7,17	
control 1	BURKS	2,67E+07	7,43	7,14±0,17
control 2	BURKS	9,76E+06	6,99	
control 3	BURKS	1,17E+07	7,07	
control 4	BURKS	1,19E+07	7,07	
control 5	BURKS	1,46E+07	7,16	
control 1	PCA	9,28E+06	6,97	6,74±0,20
control 2	PCA	8,36E+06	6,92	
control 3	PCA	4,00E+06	6,60	
control 4	PCA	3,12E+06	6,49	
control 5	PCA	5,29E+06	6,72	
control 1	YPD	2,58E+04	4,41	4,35±0,22
control 2	YPD	2,49E+04	4,40	
control 3	YPD	9,42E+03	3,97	
control 4	YPD	2,48E+04	4,39	
control 5	YPD	3,55E+04	4,55	
cubierta 1	ACTINO	1,52E+07	7,18	7,09±0,11
cubierta 2	ACTINO	1,23E+07	7,09	
cubierta 3	ACTINO	1,18E+07	7,07	
cubierta 4	ACTINO	1,60E+07	7,20	
cubierta 5	ACTINO	8,23E+06	6,92	
cubierta 1	BURKS	2,20E+07	7,34	7,13±0,21
cubierta 2	BURKS	1,44E+07	7,16	
cubierta 3	BURKS	6,53E+06	6,81	
cubierta 4	BURKS	1,96E+07	7,29	
cubierta 5	BURKS	1,05E+07	7,02	
cubierta 1	PCA	1,47E+07	7,17	6,94±0,20
cubierta 2	PCA	5,59E+06	6,75	
cubierta 3	PCA	8,51E+06	6,93	
cubierta 4	PCA	1,36E+07	7,13	
cubierta 5	PCA	5,47E+06	6,74	
cubierta 1	YPD	4,38E+04	4,64	4,51±0,88
cubierta 2	YPD	4,06E+04	4,61	
cubierta 3	YPD	4,37E+04	4,64	
cubierta 4	YPD	3,53E+05	5,55	
cubierta 5	YPD	1,24E+03	3,09	

<b>Muestra PRIMAVERA</b>	<b>Medio</b>	<b>Media (UFC/g PS tierra)</b>	<b>log 10(UFC/g PS tierra)</b>	<b>Media y desviación estándar log 10(UFC/g PS tierra)</b>
pendiente 1	ACTINO	6,02E+06	6,78	6,43±0,47
pendiente 2	ACTINO	4,77E+06	6,68	
pendiente 3	ACTINO	5,59E+06	6,75	
pendiente 4	ACTINO	1,83E+06	6,26	
pendiente 5	ACTINO	4,83E+05	5,68	
pendiente 1	BURKS	5,75E+06	6,76	6,61±0,09
pendiente 2	BURKS	3,25E+06	6,51	
pendiente 3	BURKS	3,91E+06	6,59	
pendiente 4	BURKS	4,00E+06	6,60	
pendiente 5	BURKS	3,87E+06	6,59	
pendiente 1	PCA	2,22E+06	6,35	6,52±0,22
pendiente 2	PCA	2,27E+06	6,36	
pendiente 3	PCA	4,89E+06	6,69	
pendiente 4	PCA	6,63E+06	6,82	
pendiente 5	PCA	2,54E+06	6,41	
pendiente 1	YPD	1,55E+04	4,19	3,87±0,51
pendiente 2	YPD	2,61E+04	4,42	
pendiente 3	YPD	9,94E+03	4,00	
pendiente 4	YPD	4,26E+03	3,63	
pendiente 5	YPD	1,30E+03	3,11	
ecológico 1	ACTINO	1,40E+07	7,14	6,94±0,20
ecológico 2	ACTINO	4,34E+06	6,64	
ecológico 3	ACTINO	8,08E+06	6,91	
ecológico 4	ACTINO	1,23E+07	7,09	
ecológico 5	ACTINO	7,94E+06	6,90	
ecológico 1	BURKS	1,39E+07	7,14	7,05±0,27
ecológico 2	BURKS	3,76E+06	6,58	
ecológico 3	BURKS	1,31E+07	7,12	
ecológico 4	BURKS	1,82E+07	7,26	
ecológico 5	BURKS	1,44E+07	7,16	
ecológico 1	PCA	1,07E+07	7,03	6,74±0,23
ecológico 2	PCA	2,60E+06	6,41	
ecológico 3	PCA	5,45E+06	6,74	
ecológico 4	PCA	6,97E+06	6,84	
ecológico 5	PCA	4,50E+06	6,65	
ecológico 1	YPD	8,24E+03	3,92	3,88±0,37
ecológico 2	YPD	9,78E+03	3,99	
ecológico 3	YPD	1,06E+04	4,03	
ecológico 4	YPD	1,70E+04	4,23	
ecológico 5	YPD	1,77E+03	3,25	

<b>Muestra OTOÑO</b>	<b>Medio</b>	<b>Media (UFC/g PS tierra)</b>	<b>log 10(UFC/g PS tierra)</b>	<b>Media y desviación estándar log 10(UFC/g PS tierra)</b>
control 1	ACTINO	1,10E+07	7,04	6,74±0,32
control 2	ACTINO	7,86E+06	6,90	
control 3	ACTINO	2,26E+06	6,35	
control 4	ACTINO	2,71E+06	6,43	
control 5	ACTINO	9,44E+06	6,97	
control 1	BURKS	1,32E+07	7,12	7,11±0,06
control 2	BURKS	1,14E+07	7,06	
control 3	BURKS	1,08E+07	7,03	
control 4	BURKS	1,47E+07	7,17	
control 5	BURKS	1,45E+07	7,16	
control 1	PCA	7,95E+06	6,90	6,68±0,26
control 2	PCA	3,55E+06	6,55	
control 3	PCA	6,41E+06	6,81	
control 4	PCA	1,86E+06	6,27	
control 5	PCA	7,04E+06	6,85	
control 1	YPD	9,52E+03	3,98	4,00±0,20
control 2	YPD	5,38E+03	3,73	
control 3	YPD	9,64E+03	3,98	
control 4	YPD	1,05E+04	4,02	
control 5	YPD	1,98E+04	4,30	
cubierta 1	ACTINO	1,50E+07	7,17	7,07±0,28
cubierta 2	ACTINO	1,98E+07	7,30	
cubierta 3	ACTINO	1,61E+07	7,21	
cubierta 4	ACTINO	1,24E+07	7,09	
cubierta 5	ACTINO	3,79E+06	6,58	
cubierta 1	BURKS	4,08E+07	7,61	7,53±0,13
cubierta 2	BURKS	3,14E+07	7,50	
cubierta 3	BURKS	5,08E+07	7,71	
cubierta 4	BURKS	3,09E+07	7,49	
cubierta 5	BURKS	2,35E+07	7,37	
cubierta 1	PCA	1,25E+07	7,10	6,94±0,14
cubierta 2	PCA	7,29E+06	6,86	
cubierta 3	PCA	9,39E+06	6,97	
cubierta 4	PCA	1,08E+07	7,03	
cubierta 5	PCA	5,56E+06	6,74	
cubierta 1	YPD	4,17E+04	4,62	4,50±0,11
cubierta 2	YPD	3,65E+04	4,56	
cubierta 3	YPD	2,19E+04	4,34	
cubierta 4	YPD	2,75E+04	4,44	
cubierta 5	YPD	3,33E+04	4,52	



<b>Muestra OTOÑO</b>	<b>Medio</b>	<b>Media (UFC/g PS tierra)</b>	<b>log 10(UFC/g PS tierra)</b>	<b>Media y desviación estándar log 10(UFC/g PS tierra)</b>
pendiente 1	ACTINO	5,77E+06	6,76	6,32±0,56
pendiente 2	ACTINO	2,59E+06	6,41	
pendiente 3	ACTINO	8,86E+06	6,95	
pendiente 4	ACTINO	6,10E+05	5,79	
pendiente 5	ACTINO	5,04E+05	5,70	
pendiente 1	BURKS	5,26E+06	6,72	6,91±0,29
pendiente 2	BURKS	3,97E+06	6,60	
pendiente 3	BURKS	2,31E+07	7,36	
pendiente 4	BURKS	9,76E+06	6,99	
pendiente 5	BURKS	7,65E+06	6,88	
pendiente 1	PCA	4,36E+05	5,64	6,16±0,58
pendiente 2	PCA	3,28E+05	5,52	
pendiente 3	PCA	1,66E+06	6,22	
pendiente 4	PCA	5,99E+06	6,78	
pendiente 5	PCA	4,61E+06	6,66	
pendiente 1	YPD	2,07E+04	4,32	4,43±0,16
pendiente 2	YPD	4,91E+04	4,69	
pendiente 3	YPD	2,82E+04	4,45	
pendiente 4	YPD	2,57E+04	4,41	
pendiente 5	YPD	2,00E+04	4,30	
ecológico 1	ACTINO	6,35E+06	6,80	6,60±0,36
ecológico 2	ACTINO	2,00E+06	6,30	
ecológico 3	ACTINO	1,69E+06	6,23	
ecológico 4	ACTINO	3,57E+06	6,55	
ecológico 5	ACTINO	1,26E+07	7,10	
ecológico 1	BURKS	1,57E+07	7,20	7,14±0,07
ecológico 2	BURKS	1,24E+07	7,09	
ecológico 3	BURKS	1,16E+07	7,07	
ecológico 4	BURKS	1,32E+07	7,12	
ecológico 5	BURKS	1,65E+07	7,22	
ecológico 1	PCA	4,61E+06	6,66	6,80±0,24
ecológico 2	PCA	3,83E+06	6,58	
ecológico 3	PCA	5,08E+06	6,71	
ecológico 4	PCA	7,17E+06	6,86	
ecológico 5	PCA	1,57E+07	7,20	
ecológico 1	YPD	2,68E+04	4,43	4,32±0,09
ecológico 2	YPD	2,05E+04	4,31	
ecológico 3	YPD	1,55E+04	4,19	
ecológico 4	YPD	1,98E+04	4,30	
ecológico 5	YPD	2,49E+04	4,40	